



Silakan rasvapitoisuuden ja rasvojen laadun ajallinen ja alueellinen vaihtelu Saaristomerellä

Rajasilta, M., Hänninen, J., Karpela, T., Mäkinen, K., Ollenu-Chuasam, P.,
Sahlstén, J. & Suomela, J.-P.



Tutkimusraportti (hankenro 93977)

2022

Turun yliopisto

Saaristomeren tutkimuslaitos, Biodiversiteettiyksikkö

Elintarvikekemian ja -kehityksen, Bioteknologian laitos



Tämä tutkimus on toteutettu *Euroopan meri- ja kalatalousrahaston* tuella, *Saaristomeren kalatalousryhmän* kehyksestä.

Kansikuva: *Tutkimuksessa hyödynnetty Soxhlet -laitteisto (kuva: Marjut Rajasilta 2022).*

Tiivistelmä

Tutkimuksen tarkoituksena oli tuottaa tietoja Saaristomereltä pyydetyn silakan lihaksen ja mädin rasvapitoisuudesta, rasvojen laadusta ja muista kalan ominaisuuksista, joilla on merkitystä sekä kuluttajille että silakkaa kalastaville ja jalostaville yrityksille. Silakasta määritettiin tästä syystä myös dioksiinipitoisuus, joka vaikuttaa kalan elintarvikekäyttöä koskeviin suosituksiin.

Kalanäytteet otettiin vuosina 2020-21 talvella silakan troolisaaliista Saaristomeren pohjois- ja eteläosasta sekä lisääntymisaikana rysäsaaliista kahdelta keskeiseltä pyyntialueelta (Taivassalo ja Airisto). Talvikaudella Saaristomeren alueelta pyydetty troolisolakka oli tyypillisesti pienikokoista (keskipituus 15 cm) eikä suurikokoisia yksilöitä (> 20 cm) näytteissä esiintynyt lainkaan. Rysänäytteissä silakan keskipituus oli jonkin verran suurempi (n. 16 cm) kuin talvisessa troolikalassa ja myös joitakin yli 20 cm:n pituisia yksilöitä näytteissä esiintyi (osuus 1-2 %).

Talvikaudella kalan lihas sisälsi rasvaa keskimäärin 2-3 %, mutta rasvapitoisuudessa oli jonkin verran yksilöiden välisiä eroja (vaihteluväli 1.1-5.4 %). Rasvapitoisuus ei kuitenkaan ollut yhteydessä kalan pituuteen, joten erojen taustalla on jokin muu tekijä kuin kalan koko. Lihasrasva koostui kaikkiaan noin 40:stä rasvahaposta, joista keskeisiä olivat palmitiinihappo (16:0), öljyhappo (18:1n-9) sekä monitydyttymättömät omega-3 -rasvahapot EPA (20:5n-3) ja DHA (22:6n-3), jotka ovat ns. elimistölle välttämättömiä rasvahappoja. EPA:n ja DHA:n osuus kaikista tunnistetuista rasvahapoista oli koko analysoidussa aineistossa noin 35-38 %. Kaikkiaan alueelliset erot talvikaudella olivat vähäisiä eikä saaliin koostumuksessa todettu merkittäviä eroja kalan koossa, lihasrasvan määrässä tai rasvojen laadussa.

Lisääntymiskaudella touko-kesäkuussa silakan lihaksen rasvapitoisuus oli keskimäärin 1.5 % ja siten jonkin verran matalampi kuin talvikaudella pyydetyssä kalassa. Pyyntipaikkojen välisiä eroja ei rysäkalankaan rasvapitoisuudessa havaittu ja rasvapitoisuus vaihteli lähinnä yksilöittäin. Kalan rasvahappokoostumuksessa oli vähäisiä alueiden välisiä eroja, mutta koko aineistossa rasvahappokoostumus erosi selvimmin vuodenajan suhteen. Rysäsilakankin lihasrasvasta suurimman osan muodostivat EPA ja DHA, joiden osuus oli hyvin korkea myös mädin rasvassa (35-40 %). Mädin rasvapitoisuus oli matala, keskimäärin noin 1 %. Dioksiineja Saaristomeren silakassa esiintyi hyvin vähän etenkin talvikaudella pyydetyssä troolikalassa, mutta myöskään keväisen rysäsilakan dioksiinipitoisuus ei ylittänyt elintarvikkeille asetettuja pitoisuusrajoja.

Vertailu aikaisempiin tutkimustuloksiin osoitti, että silakan rasvapitoisuus on huomattavasti alentunut viimeisten noin 20-30 vuoden aikana. Kala sisältää siten vähemmän rasvaa, mutta rasvojen laatu on todennäköisesti parantunut terveellisten omega-3 -rasvahappojen muodostaessa entistä suuremman osan kalan rasvojen koostumuksesta. Muutoksen syyt ei täysin tunneta, mutta selvimmin se liittyy Itämeren suolapitoisuuden alenemiseen.

Sammanfattning

Undersökningens syfte var att producera information om regionala och temporala variationer i fetthalten i strömmingen fångad i Skärgårdshavet under åren 2020 - 2021. Fiskproven togs från trålfångster på vintern i södra och norra delen av Skärgårdshavet och under lektiden på sommaren från ryssjor på två olika ställen (Tövsala och Erstan). Fetthaltsanalyser gjordes på strömmingens filé och rom, och av samma prov bestämdes också fettets fettsyrasammansättning, som har inverkan på fettets kvalitet. Även dioxinkoncentrationen bestämdes från både vinter- och sommarfångade strömming, eftersom dioxinhalten påverkar rekommendationerna för fiskens användning som livsmedel.

Under vintern var trålströmmingarna vanligtvis små (längd 14 - 15 cm) i Skärgårdshavets olika delar och inga större individer (>20 cm) fanns i proven. Filéns fetthalt var i genomsnitt 2 - 3 %, men halten varierade mellan individer från 1.1 % till 5.4 %. Totalt 40 olika fettsyror identifierades i strömmingens filé, men fyra av dessa stod för merparten av fettets. De viktigaste var de s.k. omega-3 fettsyrorna EPA och DHA, som är nödvändiga också för människans hälsa och måste erhållas från mat. Liksom trålfångsten bestod ryssjefångsten

huvudsakligen av små strömmingar (medellängd 16 cm), men även några större individer (>20 cm) påträffades i proven (andel 1 - 2 %). Under lektiden var fiskfiléns fetthalt lägre än på vintern (medelvärde 1.5 %), men både fiskens filé och rom innehöll rikligt med goda fettsyror EPA och DHA (andel 35-40 % av alla fettsyror). Dioxinhalten i strömmingsfilén var låg på vintern (0.52-0.55 pg/g) och även i strömmingen fångad under våren underskred halten dioxin den gräns som satts för mat i EU.

Enligt undersökningens resultat är strömmingen som fångas i Skärgårdshavet ganska homogen vad gäller fiskens storlek, fetthalt och fettets kvalitativa egenskaper. Tidserien från 1987 till 2021 visar dock, att strömmingens fetthalt har minskat avsevärt i Skärgårdshavet både under vintern och på lektiden. Samtidigt har dock fettets kvalitet till och med förbättrats eftersom andelen omega-3 fettsyror EPA och DHA har ökat. Orsaken till förändringen är inte helt känd, men den är tydligast relaterad till Östersjöns minskade salthalt.

Abstract

In this study, the fat content and fatty acid composition of the Baltic herring muscle and eggs were investigated in the Archipelago Sea during 2020-2021. Fish samples were collected from the trawl catches in winter and from the trap net catches of spawning herring in two different areas. All fish were analysed on individual basis to find out the seasonal and spatial variation in the Archipelago Sea. In addition, pooled samples of overwintering and spawning herring were investigated for the concentration of dioxins, which regulate the use of herring in human consumption.

Herring of the Archipelago Sea was typically small in size (mean length 15-16 cm) regardless of the season and fishing area. Large-sized individuals (> 20 cm) were not found in the samples taken in winter and their number was low also in the trap net samples (1-2 % of all fish in the sample). In all, the herring of the Archipelago Sea seemed to form a rather homogeneous population as for the size structure, fat content and fatty acid composition. The largest differences were due to the reproductive phase, as the fat content of the muscle tissue was somewhat higher in the overwintering fish (mean 2-3 %) than in those collected at the spawning time (mean 1.5 %). Fat content varied substantially among the individual fish independently on fish size. Lipids of the fish fillet were composed of about 40 fatty acids, of which the major ones were the palmitic acid (16:0), oil acid (18:1n-9) and the long-chain polyunsaturated fatty acids EPA (20:5n-3) and DHA (22:6n-3). EPA and DHA formed on average 35-38 % of the herring lipids during the winter, and they were equally important also in the lipids of spawning fish, representing some 35-40 % of all fatty acids found in the muscle tissue. Herring eggs contained only little fat (mean concentration 1 %), and the fatty acid composition indicated a high proportion of EPA and DHA in the FA-profile of the herring rom. The level of dioxins in the herring fillet was low (0.52-0.55 pg/g) in the samples taken in winter. In spawning fish, the concentrations were somewhat higher (2.1 – 4.8 pg/g), but the dioxin levels didn't exceed the limit set by the European Commission for human food also in these samples.

The comparison with the earlier results on the Archipelago Sea herring indicated that the fat content of the muscle tissue has decreased from the average 7-8 % to the present 2-3 % in the winter samples, and from 3-4 % to the present 1-2 % in the samples taken at the spawning season. The herring of the Archipelago Sea thus contains less fat than for instance in the 1980s, but the lipids mainly consist of high-quality fatty acids essential for the human health. The reason for the change is not fully understood, but most likely it is connected to the decline of the water salinity in the Baltic Sea.

1. Tutkimuksen tausta ja tarkoitus

Silakan käytön lisääminen elintarvikkeena ja jalostukseen perustuvien arvoketjujen kehittäminen ovat Varsinais-Suomen elinkeinokalatalouden keskeisiä tavoitteita (Saaristomeren elinkeinotalouden nykytila/Strategiatyöryhmä 2013). Etenkin pienikokoisen silakan hyödyntäminen jalostuksessa nähdään tarpeellisena, koska pienten kalojen osuus kalakannassa on kasvanut, mutta käyttö elintarvikkeena vähäistä. Koska Saaristomereltä pyydetty kala on enimmäkseen pienikokoista, voisivat siitä valmistetun tuotteen etuina olla kuluttajan näkökulmasta esimerkiksi terveellisyys ja lähellä tuotettu raaka-aine. Myös tuoreimmat silakan käytön riskianalyysit suosittelivat etenkin pienikokoisen silakan käyttöä elintarvikkeena matalan dioksiinipitoisuuden takia (Tuomisto *et al.* 2020).

Kalan koon ohella rasvat ovat silakan laadullisista ominaisuuksista tärkeimpiä, koska ne vaikuttavat valmistettavien tuotteiden koostumukseen, valmistusominaisuuksiin, makuun, ravintoarvoon sekä terveellisyteen. Rasvan määrä ja laatu kalassa eivät kuitenkaan ole vakioita, vaan ne vaihtelevat ajallisesti ja alueellisesti, riippuen kalan ravinnosta ja ominaisuuksista kuten iästä, koosta ja lisääntymiskierron vaiheesta. Kalan korkea rasvapitoisuus voi olla myös haitallinen, koska monet vierasaineet kuten dioksiinit kertyvät kalaan rasvan mukana.

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli tuottaa tietoja Saaristomereltä pyydetyn silakan rasvapitoisuudesta, rasvojen laadusta ja muista kalan ominaisuuksista, joilla on merkitystä sekä kuluttajille että silakkaa jalostaville yrityksille. Saaristomereltä pyydetyn silakan lihaksen ja mädin rasvapitoisuudesta on tietoja saatavilla 1970-luvulta lähtien (Kaitaranta & Linko 1984; Linko *et al.* 1985; Rajasilta 1992; Aro *et al.* 2000) ja erillisten tutkimusten lisäksi on tehty säännöllistä seuranta Airistolla lisääntyvän silakan lihaksen ja mädin rasvapitoisuudesta (Rajasilta *et al.* 2018; 2021). Koska tutkimustuloksia rasvan määrän ja koostumuksen vaihtelusta Saaristomeren eri osissa ei juurikaan ole saatavilla, näytteet pyrittiin ottamaan siten, että sekä trooli- että rysäkalan ominaisuuksien vertailu alueiden välillä oli mahdollista ja tuloksia voitiin myös vertailla aikaisempiin tutkimustuloksiin.

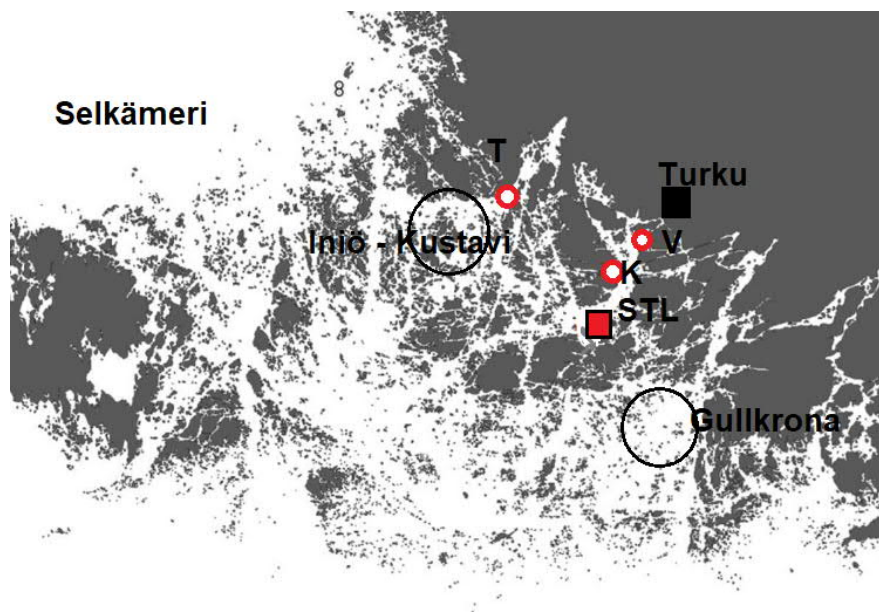
Tutkittavat kalat kerättiin talvikaudella, jolloin silakan syönnös vaihe on päättynyt, ja kevätkesällä, kun kala on lisääntymässä sisäsaaristossa sijaitsevilla kutupaikoilla. Näytteistä määritettiin kalan lihaksen rasvapitoisuus ja rasvahappokoostumus sekä silakan elintarvikekäyttöä säätelevien dioksiinien pitoisuus. Tämän lisäksi määritettiin myös silakan mädin rasvapitoisuus ja rasvahappokoostumus. Silakan mädin käyttö elintarvikkeena on tiettävästi vähäistä, mutta aikaisempien kuluttajaselvitysten mukaan käyttöä olisi mahdollista ja kalalle lisäarvoa tuottavana tarpeellista lisätä sekä kotimaassa että vientituotteena (Turun ammattikorkeakoulu 2008).

Tutkimuksen yhteydessä osoitettiin myös kalaa jalostaville yrityksille tiedustelu koskien yritysten mahdollisesti itse tekemiä tai teettämiä silakan rasvapitoisuusmäärittämiä.

2. Aineisto ja menetelmät

2.1. Kalanäytteet ja kalojen käsittely

Tutkittavat kalanäytteet otettiin vv. 2020-2021 silakan troolisaaliista Iniö-Kustavin ja Gullkronan merialueilta marras-joulukuussa ja touko-kesäkuussa kaupallisesta rysäsaaliista Taivassalossa (1 paikka) ja Airistolta, jossa silakkanäytteitä otetaan vuosittain tutkimuskäyttöön valmistetulla ns. tutkimusrysällä (2 paikkaa). Molemmat alueet ovat myös keskeisiä silakan poikastuotantoalueita Saaristomerellä (kuva 1).



Kuva 1. Silakkanäytteiden keruupaikat Saaristomerellä vv. 2020-21. Rysänäytteet: T=Taivassalo (Omenasaari); K=Kalkku; V=Viittakari; troolinäytteet: Gullkronan ja Iniö – Kustavin merialue. STL=Saaristomeren Tutkimuslaitos, Seili.

Näytteeksi otettiin noin 100-150 kalaa lajittelemattomasta saaliista satunnaisotannalla. Kalat kuljetettiin Saaristomeren tutkimuslaitoksen laboratorioon (Seili) jäillä varustetuissa kylmälaukuissa. Kaloista otettiin erilleen rasva- ja rasvahappomäärittelyä varten näyte-erät, jotka pakastettiin tavanomaista pakastuslämpötilaa alhaisemmassa lämpötilassa (-80 °C) sen varmistamiseksi, että rasvojen koostumus pysyy muuttumattomana. Loput näyteen kalat pakastettiin jatkokäsittelyä varten (-20 °C).

Näytteiden käsittely aloitettiin sulattamalla kalat vähitellen huoneenlämmössä; kaloista määritettiin yksilöittäin pituus (cm), kokonaispaino 0.1 g:n tarkkuudella, kalan sukupuoli ja sukurauhasten eli gonadien kehitysvaihe ja paino 0.01 g:n tarkkuudella. Kalan kehitysvaihe määritettiin silmämääräisen arvioinnin perusteella käyttäen ns. Kestevenin asteikkoa:

- 1= juveniili; ei sukukypsä (nuori kala, sukupuoli ei määritettävissä)
- 2= kehittyvä varhaisvaihe (gonadit rihmamaiset, sukupuoli ei määritettävissä paljain silmin);
- 3= kehittyvä (gonadien koko kasvanut, sukupuoli määritettävissä);
- 4= kutukypsä, mutta ei vielä kuteva (gonadit täysikokoiset, mutta rakenne vielä kiinteähkö; verisuonitus selvästi näkyvissä);
- 5= kuteva (gonadit täysikokoiset, rakenne pehmeä, verisuonitus heikosti näkyvä tai hävinnyt);
- 6= kuteva, mäti ja maiti kauttaaltaan valuvaa, mutta gonadi vielä ehjä;

7= kutenut; gonadit osittain tai lähes kokonaan tyhjentyneet;
8= gonadit tyhjat, naarailla mahdollisesti joitakin mätijyväsia jäljellä

Kalan kunto laskettiin Fultonin kuntokertoimena ($100 \times \text{kalan kokonaispaino/pituus}^3$). Kaloista irrotettiin myös kuuloluut myöhemmin tehtävää iänmäärittystä varten. Hitaasta kasvusta johtuen silakan iän määrittäminen edellyttää kuitenkin kuuloluiden käsittelyä erityismenetelmin (Peltonen *et al.* 2002), joita ei hankkeen yhteydessä ollut mahdollista soveltaa. Tutkittujen kalojen ikä on tästä syystä arvioitu aikaisempien tutkimusaineistojen perusteella (STL/silakkatutkimus).

Silakan lihaksen rasvapitoisuus määritettiin yksilöittäin yhteensä 110 kalasta, minkä lisäksi määrittäminen tehtiin myös kokoomanäytteistä ($n=3/\text{alue}$), joihin yhdistettiin lihasnäyte 20-30 kalayksilöstä (Taulukko 1). Mädin rasvapitoisuus määritettiin yksilökohtaisesti 35 kalasta ja rasvahappokoostumus samoin yksilöittäin sekä kalan lihaksesta ($n=60$) että mädistä ($n=26$) (Taulukko 1). Kalan lihaksesta määritettiin lisäksi dioksiinien pitoisuus sekä talvehtivasta kalasta (2 aluetta) että lisääntymisvaiheisesta kalasta (2 aluetta). Dioksiinimäärittäystä varten eri alueiden kaloista (10-20 yks./alue) preparoitiin nahatonta lihaskudosta noin 1-2 g:n suuruinen kappale, jotka yhdistettiin kokoomanäytteeksi ja pakastettiin (-20 °C) analyysijä varten. Dioksiinipitoisuuden määrittäminen tarjouspyyntöjen perusteella ALS Finland Oy (liite 1).

Taulukko 1. Silakkanäytteet, joista määritettiin kalan lihaksen ja mädin rasvapitoisuus, rasvahappokoostumus ja lihaksen sisältämien dioksiinien pitoisuus Saaristomeren eri osa-alueilla vu. 2020-21. x = kokoomanäyte, suluisissa lukumäärä (n).

Alue	Aika	Lihäs				Mäti	
		Rasva-pitoisuus (yksilön.) (n)	Rasva-pitoisuus (kokooma) (n)	Rasva-happo-koostumus (n)	Dioksiinit (n)	Rasva-pitoisuus (n)	Rasva-happo-koostumus (n)
Gullkrona	22.11.2020 23.11.2021	25	x (3)	10 + 10	x (1)	-	-
Iniö-Kustavi	15.12.2020 9.12.2021	20	x (3)	10 + 10	x (2)	-	-
Airisto	27.5. - 8.6.2020	25	x (3)	10	x (1)	17	11
Airisto	24.5.2021	18			x (1)	18	15
Taivassalo	3.6.2020	22	x (3)	10	x (1)		

2.2. Lihaksen rasvapitoisuus

Lihaskudoksen rasvapitoisuus määritettiin selkälihaksesta, josta poistettiin nahka ja ruodot mahdollisimman tarkoin. Lihaksesta leikattiin 3-5 g:n painoinen pala, joka punnittiin 0.1 mg tarkkuudella; kuivattiin pakastekuivurissa vakiopainoon (24-48 t) ja punnittiin uudelleen (0.1 mg tarkkuus). Kuivattu näyte jauhettiin huhmareessa hienojakoiseksi ja siihen lisättiin ripaus natriumsulfaattia (Na_2SO_4) poistamaan mahdollista jäännöskosteutta. Näyte pakattiin selluloosahylsyyn ja uutettiin Soxhlet -laitteistossa noin 6 tunnin ajan käyttäen liuottimena dietyylieetteriä (150 ml/näyte; Merck p.a.). Uutoksen päätyttyä eetteri poistettiin haihduttamalla (pyöröhaihdutin) ja rasvajäännös punnittiin (0.1 mg:n tarkkuus). Mädin rasvapitoisuus määritettiin vastaavalla tavalla kokonaisista ovarioista tai ovarion osasta. Näytteen rasvapitoisuus laskettiin prosentteina näytteen tuorepainoa (% t.p.) tai kuiva-aineen painoa kohti (% k.a.).

2.3. Lihaksen ja mädin rasvahappokoostumus

Noin 0,5 g suuruinen kudoksenäyte hienonnettiin, punnittiin ja siirrettiin kierrekorkilliseen koeputkeen. Näytteeseen lisättiin 5 mL liuotuksesta (MTBE/metanoli, 10:3, v/v) ja näytettä sekoitettiin varovasti 20 minuutin ajan, minkä jälkeen se sentrifugoitiin (700 g, 5 min). Nestefaasi siirrettiin toiseen koeputkeen, ja kiinteään jäännökseen lisättiin 2 mL liuotuksesta (MTBE/metanoli/vesi, 10:3:2,5, v/v), joka sekoitettiin ja sentrifugoitiin (700 g, 5 min), minkä jälkeen nestefaasi otettiin talteen ja yhdistettiin edelliseen. Yhdistettyyn näytteeseen lisättiin 1,5 mL 0.88% KCl, sekoitettiin 1 min ja sentrifugoitiin (700 g, 5 min). Lipidit sisältävä ylempi faasi siirrettiin punnittuun koeputkeen, näytteestä haihdutettiin liuotin typpikaasun avulla (40 °C) ja punnittiin uudelleen, jolloin tulokseksi saatiin lipidien määrä näytteessä. Lipidinäytteeseen lisättiin 10 mL MTBE/metanoli -liuosta (10:3, v/v) ja se pakastettiin (-20 °C) rasvahappoanalyysijä varten.

Rasvahappojen metyyliesterit valmistettiin lisäämällä typpikaasun avulla kuivattuun lipidinäytteeseen (n. 0,5 µg) 2 mL asetyylikloridi/metanoli -liuosta (C₂H₃ClO/MeOH, 1:10 v/v); näytettä sekoitettiin ja se siirrettiin lämpökaappiin vuorokauden ajaksi (+50 °C). Jäähdytyksen jälkeen näytteeseen lisättiin ensin 2 mL K₂CO₃:ta (1M) ja tämän jälkeen vähitellen 1 mL n-heksaania sekoittamalla samalla seosta 10 min ajan. Näyte sentrifugoitiin (1000 rcf, 3 min) ja lipidit (= rasvahappojen metyyliesterit) sisältävä ylempi faasi otettiin talteen rasvahappojen tunnistamista varten, joka tehtiin välittömästi, mikäli mahdollista; tarvittaessa näyte pakastettiin (-20 °C). Rasvahappojen metyyliesterit analysoitiin näytteistä kaasukromatografisesti laitteella, jossa on liekki-ionisaatiotektori (GC-2030, Shimadzu, Japani); kolonni oli tyypiltään DB-23 (59 m x 0,23 mm i.d.; kalvon paksuus 0,25 µm; Agilent, USA). Yksittäiset rasvahapot tunnistettiin standardien 68D (Nu Chek Prep, USA) ja FAME37 (Supelco, USA) avulla.

2.4. Tilastolliset analyysit

Aineiston parittaisissa vertailuissa käytettiin lg10-muunnettuja lukuarvoja ja t-testiä; korrelaatiot laskettiin Pearsonin korrelaatiotestillä (SPSS v. 21.0). Rasvahappokoostumuksen alueellinen ja ajallinen vertailu toteutettiin R-ohjelmistoilla (R Core Team 2019). Tilastoanalyysissä käytettiin rasvahappojen prosentiosuuksia, jotka laskettiin yhtä näytettä kohden. Prosentiosuuksille tehtiin myös arcsin-muunnos ennen tilastotestejä. Tutkimuksessa analysoitiin kaikkiaan 21 rasvahappoa, joiden katsottiin esiintyvän riittävän yleisenä kaikissa näytteissä (>1%).

Lihasnäytteiden rasvahappokoostumuksen jakautumista näytteenottoalueiden ja -vuodenaikojen välillä tarkasteltiin visuaalisesti kaksiulotteisella NMDS-ordinaatiomenetelmällä (engl. *Non-metric Multidimensional Scaling*). Menetelmän tuottamassa ordinaatiossa rasvahappoja esittävien pisteiden välimatkat kuvaavat näytteiden rasvahappokoostumusten erilaisuutta ja samankaltaisuutta. Mitä lähempänä tai kauempana pisteet sijaitsevat toisistaan, sitä yhdenmukaisempi tai erilaisempi näytteiden rasvahappokoostumus on. Ordinaatioanalyysi laskettiin käyttämällä R:n vegan-paketin (v. 2.5.7) metaMDS-funktiota (Oksanen *et al.* 2019). Kaksiulotteinen NMDS-ordinaatio sovitettiin käyttämällä oletusarvoja ja Bray-Curtis-etäisyysmittaa, joka soveltuu erityisesti heterogeenisille, paljon nolla-arvoja sisältäville yhteisöekologisille aineistoille (mm. McCune & Mefford, 1999; Clarke & Warwick, 2001). Ordinaation luotettavuutta tulkittiin ns. stressiarvon perusteella, joka heijastaa alkuperäisen aineiston samankaltaisuutta esitettyyn ordinaatiokuvaajaan.

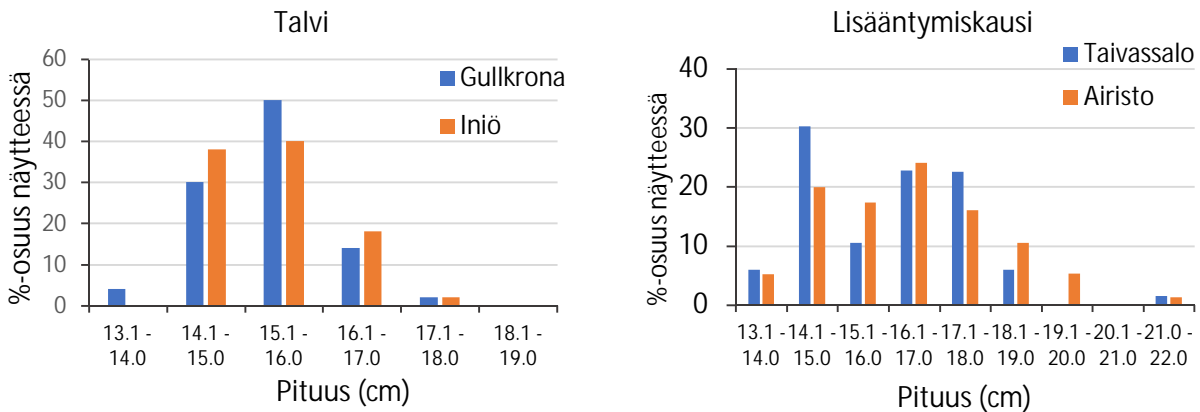
NMDS-ordinaatiossa havaittuja eroja tutkittiin R:n vegan-paketin permutaatio- (adonis-funktio) ja similariteettianalyysillä (anosim-funktio), joiden avulla voidaan tutkia yhden tai useamman tekijän vaikutusta joko yhteen tai useampaan muuttujaan. Molemmat analyysit suoritettiin käyttäen Bray-Curtis-etäisyysmittaa ja 999 permutaatiota. Tämän lisäksi similariteettiprosenteilla

(Similarity Percentages; SIMPER-funktio) tutkittiin millä prosentiosuudella rasvahapot vaikuttivat ryhmien välisiin eroihin Bray-Curtis etäisyysmatriksilla.

3. Tulokset

3.1. Näytekalojen koko eri alueilla

Talvella otetuissa näytteissä kalat olivat jokseenkin pienikokoisia (pituusvaihtelu 13-18 cm) sekä Gullkronan että Iniö-Kustavin alueilla (Kuva 2). Runsaimmin näytteissä esiintyi 15-16 cm:n pituisia kaloja ja tätä suurempien (> 17 cm) osuus oli vähäinen (Kuva 2). Lisääntymiskaudella otetuissa rysänäytteissä esiintyi jonkin verran isokokoisempiakin yksilöitä, mutta esimerkiksi yli 20 cm:n pituisten kalojen osuus tutkituissa näytteissä oli vain 1-2 % (Kuva 2). Parittaisten vertailun mukaan (t-testi) kalojen ominaisuuksissa ei ollut havaittavissa alueiden välisiä eroja talvikaudella (Taulukko 2), eikä kutevassakaan kalassa havaittu eroja Taivassalon ja Airiston välillä lukuun ottamatta kalan kuntokerrointa (CF), joka osoitti Taivassalossa kutevien kalojen olevan jonkin verran parempikuntoisia kuin Airistolta pyydytetyt kalat (Taulukko 2).

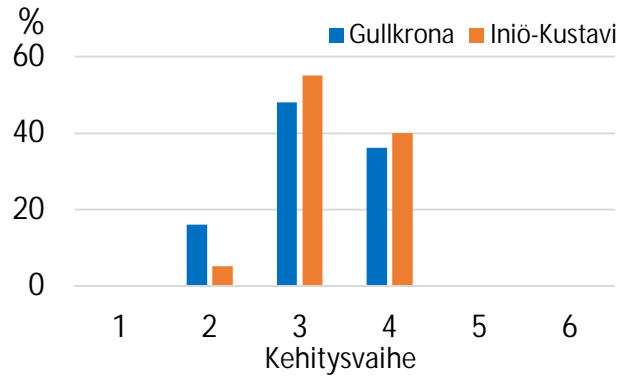


Kuva 2. Silakan pituusjakauma (%-osuus näytteessä) talvella otetuissa troolinäytteissä ja kutuaikana otetuissa rysänäytteissä eri alueilla.

Taulukko 2. Saaristomereltä pyydetyn trooli- ja rysäsilakan pituus, paino ja kuntokerroin (keskiarvo ja keskihajonta) näytteissä eri alueilla v. 2020 sekä parittaisten vertailujen tulos (t-testi; t:n arvo ja merkittävyys; n= tutkittujen kalojen lukumäärä).

Ominaisuus	Talvikausi (troolikala)		Lisääntymiskausi (rysäkala)	
	Gullkrona	Iniö-Kustavi	Taivassalo	Airisto
Pituus	15.4 (0.8)	15.3 (0.8)	16.1 (1.6)	16.4 (1.7)
Paino	22.4 (4.4)	21.8 (4.4)	26.9 (10.5)	26.8 (11.7)
Kuntokerroin	0.609 (0.06)	0.598 (0.05)	0.612 (0.08)	0.575 (0.09)
n	50	50	66	75
t-testi: pituus	t=0.340; p>0.10; df= 98		t=-1.040; p>0.10; df=139	
paino	t= 0.701; p>0.10; df=98		t=0.064; p>0.10; df=134	
CF	t=0.986; p>0.10; df=98		t=2.378; p<0.05; df=134	

Talvikauden näytteissä oli koiraita selvästi enemmän kuin naaraita (koiras/naaras -suhde = 2:1) koko tutkimusalueella. Gonadien kehitysvaihe vaihteli välillä 2-4, mutta kehitysvaiheen perusteella jokseenkin kaikki kalat olivat valmistautumassa seuraavaan lisääntymiskertaan. Lähes 40 % kummankin alueen kaloista oli kehitysvaiheessa 4 eli lähes kutuvalmiita.



Kuva 3. Silakan gonadien kehitysvaihe Saaristomeren osa-alueilla marras-joulukuussa 2020 otetuissa näytteissä, joista on määritetty lihaksen rasvapitoisuus.

3.2. Silakan lihaksen rasvapitoisuus

Talvikausi

Talvella otetuissa näytteissä silakan lihaksen rasvapitoisuus oli keskimäärin 2-3 % näytteen tuorepainosta. Pitoisuus vaihteli jonkin verran kalayksilöiden välillä, mutta oli suurimmillaankin noin 5 % näytteen tuorepainosta (Taulukko 3). Gullkronan merialueelta pyydytyssä silakassa rasvaa oli hieman enemmän kuin Iniön kaloissa näytteen tuorepainoa kohti laskettuna ($p < 0.05$; Taulukko 3), mutta kuivapainoa kohti laskettuna rasvapitoisuuden erot alueiden välillä eivät olleet merkitseviä ($p > 0.10$). Ero selittyy todennäköisesti lihaskudoksen vesipitoisuudella, joka Iniö-Kustavin merialueelta pyydytyissä kaloissa oli jonkin verran korkeampi (keskiarvo = 78.8 %) kuin Gullkronan merialueen kaloissa (keskiarvo = 77.5 %). Kalan lihaskudoksessa rasva- ja vesipitoisuus ovat yleensä käänteisessä suhteessa toisiinsa, mikä yhdistetyssä aineistossa ilmenikin lihasrasvan ja vesipitoisuuden voimakkaana negatiivisena korrelaationa (Pearsonin korrelaatiokerroin $r = -0.846$; $p < 0.001$; $df = 43$).

Taulukko 3. Silakan lihaksen rasvapitoisuus (% tuore- ja kuivapainosta) Saaristomeren eri osissa syönnöskauden lopulla marras-joulukuussa 2020 sekä alueiden vertailun tulos (t-testi; t:n arvo ja merkitsevyys; n = tutkittujen kalojen lukumäärä).

Alue	Rasvapitoisuus (% t.p.)			Rasvapitoisuus (% k.a.)			n
	Keskiarvo	SD	Vaihteluväli	Keskiarvo	SD	Vaihteluväli	
Gullkrona	3.1	1.0	1.6 – 5.4	13.7	4.0	7.5 – 22.6	25
Iniö- Kustavi	2.5	0.9	1.1 – 4.6	11.8	3.4	5.8 – 18.9	20
t-testi	t = 2.059; p = 0.046; df = 43			t = 1.694; p > 0.10; df = 43			

Lisääntymiskausi

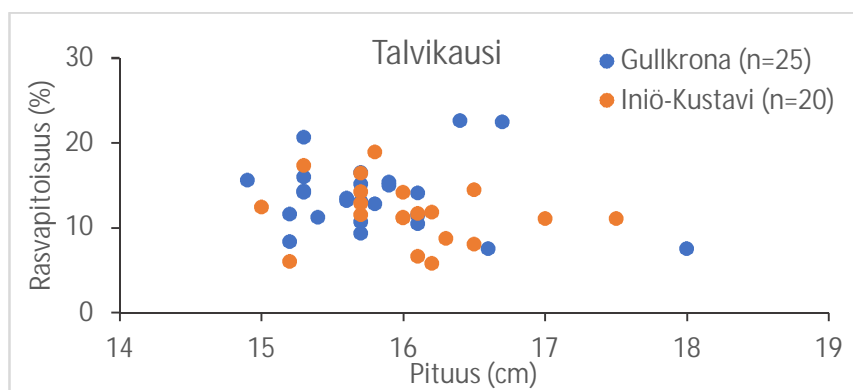
Lisääntymisaikana pyydetyn silakan lihaksessa rasvaa oli keskimäärin 1.5 % näytteen tuorepainosta molemmilla kutualueilla, joskin yksilöiden välillä rasvapitoisuus vaihteli samoin kuin talvinäytteissäkin (Taulukko 4). Lihaksen rasvapitoisuudessa ei ollut tilastollisesti todettavia eroja kutualueiden välillä tuore- tai kuivapainoa kohti laskettuna ($p > 0.10$ molemmissa tapauksissa).

Taulukko 4. Silakan lihaksen rasvapitoisuus (% tuore- ja kuivapainosta) lisääntymiskautena 2020 Taivassalossa ja Airistolla.

Alue	Rasvapitoisuus (% t.p.)				Rasvapitoisuus (% k.a.)			
	Keskiarvo	SD	Vaihteluväli	n	Keskiarvo	SD	Vaihteluväli	n
Taivassalo	1.55	0.82	0.29-3.53	21	7.08	3.70	1.39-16.14	21
Airisto	1.58	0.76	0.49-3.68	25	7.78	3.55	2.82-16.10	25
t-testi	t = 0.367; p>0.10; df=44				t = 0.917 p>0.10; df=44			

3.3. Kalan koon vaikutus lihaksen rasvapitoisuuteen

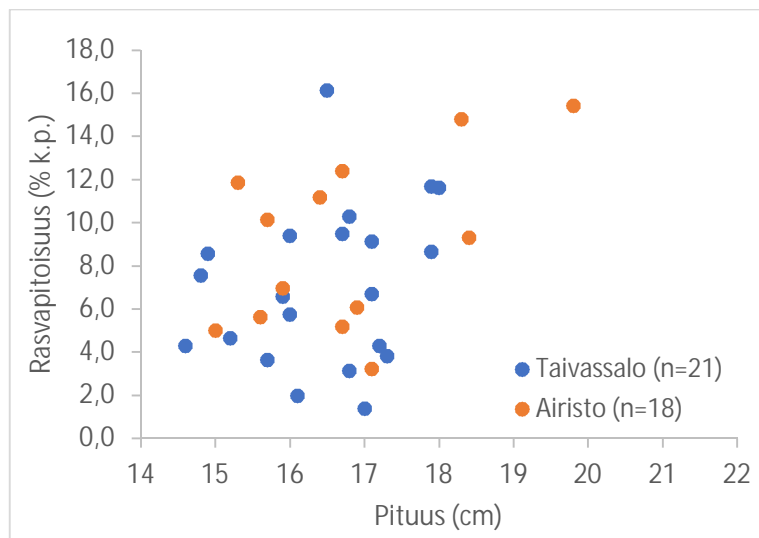
Kalan pituuden vaikutusta lihaksen rasvapitoisuuteen talvikaudella tarkasteltiin yhdistämällä Gullkronan ja Iniön merialueilta kerätty näyteaineisto, koska näin saatiin enemmän pituusvaihtelua kalayksilöiden välille. Aineistossa, jossa kalojen pituudet vaihtelivat välillä 13.8 – 18.0 cm, ei lihaksen rasvapitoisuudella kuitenkaan ollut yhteyttä kalan pituuteen (Kuva 4). Rasvapitoisuuden ja kalan pituuden välinen korrelaatio oli ei-merkittävä riippumatta siitä, laskettiinko rasvapitoisuus näytteen tuorepainoa ($r = -0.242$; $p > 0.10$; $df = 43$) tai kuivapainoa kohden ($r = -0.234$; $p > 0.10$; $df = 43$). Talvikaudella otetuissa troolinäytteissä kalat olivat kuitenkin varsin tasakokoisia ja pääasiassa 15-16 cm:n pituisia molemmilla merialueilla, joten talvisen kalan voidaan sanoa olevan myös rasvapitoisuudeltaan varsin tasalaatuista. Lihasrasvan ja kalan koon välinen suhde saattaisi olla jopa negatiivinen (Kuva 4), mutta koska suurikokoisimpia kaloja oli näytteissä vain muutama, ei mahdollista eroa voitu tällä aineistolla selvittää.



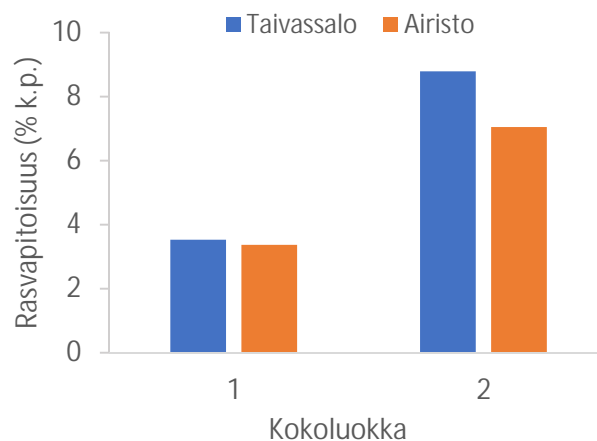
Kuva 4. Silakan lihaksen rasvapitoisuuden (%) ja kalan pituuden (cm) välinen yhteys talvikaudella pyydettyssä kalassa Saaristomerellä kahdella osa-alueella v. 2020. (Rasvapitoisuus laskettu näytteen kuivapainosta).

Lisääntymiskaudella otetuissa rysänäytteissä kalojen pituus vaihteli enemmän kuin talvinäytteissä (14.8 – 19.8 cm), mutta pääosa kaloista oli tällöinkin alle 17 cm:n pituisia (Kuva 5A). Yhdistetyssä aineistossa lihaksen kuiva-aineen rasvapitoisuus korreloi kuitenkin jonkin verran positiivisesti kalan pituuden kanssa ($r= 0.435$; $p<0.05$; $df=41$) ja vastaava yhteys havaittiin myös kokoomanäytteissä, joihin yhdistettiin rysänäytteistä suurikokoisimmat (17-22 cm) ja pienikokoisimmat (13-15 cm) kalat omiksi ryhmikseen. Kun näytettä oli näin enemmän ja yksilöiden välinen hajonta vähäisempää, isokokoisimpien kalojen lihasrasva näytti olevan selvästi korkeampi kuin pienikokoisten kalojen molemmilla kutupaikoilla (Kuva 5B).

(A)



(B)



Kuva 5. Silakan lihaksen rasvapitoisuus (% näytteen kuivapainosta) eripituisilla kaloilla Taivassalon ja Airiston rysänäytteissä (A) yksilöittäin ja (B) kokoomanäytteissä kokoluokittain. Kokoluokka 1= 13-15 cm; 2= 17-22 cm.

3.4. Mädin rasvapitoisuus

Silakan mädin rasvapitoisuus määritettiin Airistolla kutevasta kalasta vuosina 2020 ja 2021. Yhdistetyssä aineistossa (n=35) rasvapitoisuus oli varsin matala, keskimäärin 1-1.4 % mädin tuorepainosta (Taulukko 5). Vuosien välinen vertailu sekä tuore- että kuivapainoa kohden lasketuilla pitoisuuksilla (t-testi) viittasi siihen, että mädin rasvasisältö vaihtelee jonkin verran vuosittain ($p < 0.05$). Kalan pituuteen mädin rasvapitoisuudella ei ollut yhteyttä kumpanakaan vuotena.

Taulukko 5. Silakan mädin rasvapitoisuus (% näytteen tuore- tai kuivapainosta) Airistolla vuosina 2020 ja 2021 sekä vuosien välisen vertailun tulos (t-testi).

Vuosi	Rasvapitoisuus (% t.p.)				Rasvapitoisuus (% k.a.)			
	Keskiarvo	SD	Vaihteluväli	n	Keskiarvo	SD	Vaihteluväli	n
2020	1.07	0.36	0.38-2.03	17	4.60	1.85	0.33-9.05	17
2021	1.40	0.54	0.71-2.63	18	6.23	2.23	3.09-11.05	18
t-testi	t= -2.081; p<0.05; df= 33				t= -2.069; p<0.05; df= 33			

3.5. Lihaksen rasvahappokoostumus

Silakan lihaskudoksessa esiintyvistä rasvasta tunnistettiin analyyseissä noin 40 erillistä rasvahappoa, joista kuitenkin noin puolet esiintyi vain hyvin pieninä pitoisuuksina (osuus näytteen kaikista rasvahapoista <0.5 %). Noin 70 % rasvan kokonaismäärästä muodostivat palmitiinihappo (16:0), öljyhappo (18:1(n-9)) sekä EPA (eikosapentaenoehappo; 20:5(n-3)) ja DHA (dokosaheksaeniinihappo; 22:6(n-3)), jotka molemmat kuuluvat ns. elimistölle välttämättömiin omega-3 -rasvahappoihin (Taulukko 6). Yhteensä EPA:n ja DHA:n osuus kaikista rasvahapoista oli talvinäytteissä lähes 40 % ja kutuaikanakin 30-40 %.

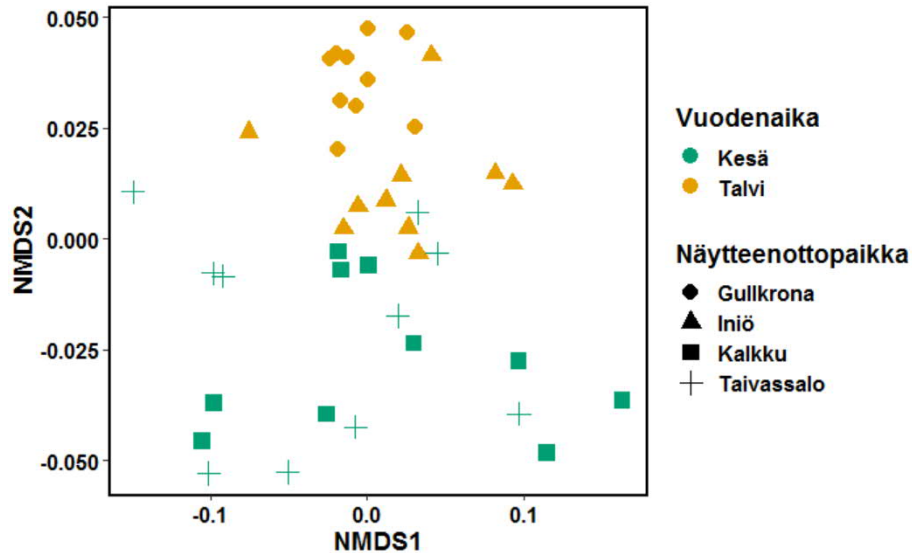
Taulukko 6. Silakan lihaksen rasvahappokoostumus (näytteiden keskiarvo; suluissa keskihajonta) Saaristomerellä syönnöskauden lopulla marras-joulukuussa 2020-21 ja lisääntymisaikana touko-kesäkuussa 2020. Rasvahappojen %-osuus laskettu osuutena kaikista rasvahapoista näytteessä. Taulukossa esitetty rasvahapot, joiden %-osuus rasvassa on >0.5 %; n= tutkittujen kalojen lukumäärä.

Rasvahappo	Talvi 2020 (troolikala)		Talvi 2021 (troolikala)	
	Gullkrona % (n=10)	Iniö-Kustavi % (n=10)	Gullkrona % (n=10)	Iniö-Kustavi % (n=10)
14:0	2.8 (0.5)	2.8 (0.7)	2.5 (0.4)	2.8 (0.4)
15:0	0.5 (0.03)		0.6 (0.06)	0.6 (0.05)
16:0	19.7 (0.7)	19.7 (1.0)	19.5 (0.5)	18.9 (0.5)
17:0	0.5 (0.03)	0.5 (0.1)	0.6 (0.1)	0.5 (0.06)
18:0	2.3 (0.3)	2.7 (0.5)	3.1 (1.3)	2.5 (0.3)
16:1(n-7)	4.7 (0.9)	4.1 (1.0)	4.3 (1.3)	4.7 (0.7)
18:1(n-7)	2.4 (0.2)	2.6 (0.3)	2.7 (0.3)	2.9 (0.2)
18:1(n-9)	14.3 (2.7)	13.9 (3.3)	10.7 (2.7)	12.6 (3.0)
18:2(n-6)	2.8 (0.4)	2.9 (1.0)	2.6 (0.3)	2.9 (0.5)
18:3(n-3)	1.9 (0.4)	2.1 (0.6)	2.7 (0.4)	3.0 (0.5)
20:1(n-9)	0.7 (0.08)	0.6 (0.1)	0.3 (0.1)	0.4 (0.1)
20:2(n-6)	0.7 (0.06)	0.7 (0.5)	0.5 (0.07)	0.6(0.2)
20:4(n-6)	0.9 (0.2)	1.1 (0.1)	0.9 (0.3)	1.1 (0.2)
20:5(n-3)	10.0 (0.5)	10.5 (1.7)	11.7 (1.4)	11.9 (1.5)
22:6(n-3)	28.5 (3.3)	28.3 (5.6)	26.8 (3.0)	22.5 (3.3)
24:1(n-9)	1.7 (0.2)	1.3 (0.4)	1.0 (0.3)	1.0 (0.2)

Rasvahappo	Lisääntymiskausi (rysäkala)	
	2020	2020
	Taivassalo % (n=10)	Airisto % (n=10)
14:0	3.1 (1.4)	2.5 (1.4)
16:0	18.4 (3.9)	18.7 (2.9)
18:0	2.4 (0.8)	2.7 (0.6)
16:1(n-7)	3.3 (1.4)	2.2 (1.2)
18:1(n-7)	2.4 (0.2)	2.3 (0.2)
18:1(n-9)	18.9 (6.6)	16.1 (6.5)
18:2(n-6)	3.3 (0.9)	3.0 (0.8)
18:3(n-3)	1.4 (0.5)	1.0 (0.3)
20:1(n-9)	1.5 (1.0)	1.2 (1.0)
20:2(n-6)	1.1 (0.6)	0.9 (0.5)
20:4(n-6)	1.2 (0.5)	1.6 (0.6)
20:5(n-3)	8.0 (2.8)	9.1 (2.7)
22:6(n-3)	24.4 (8.6)	30.8 (9.6)
24:1(n-9)	1.6 (0.6)	1.5 (0.4)

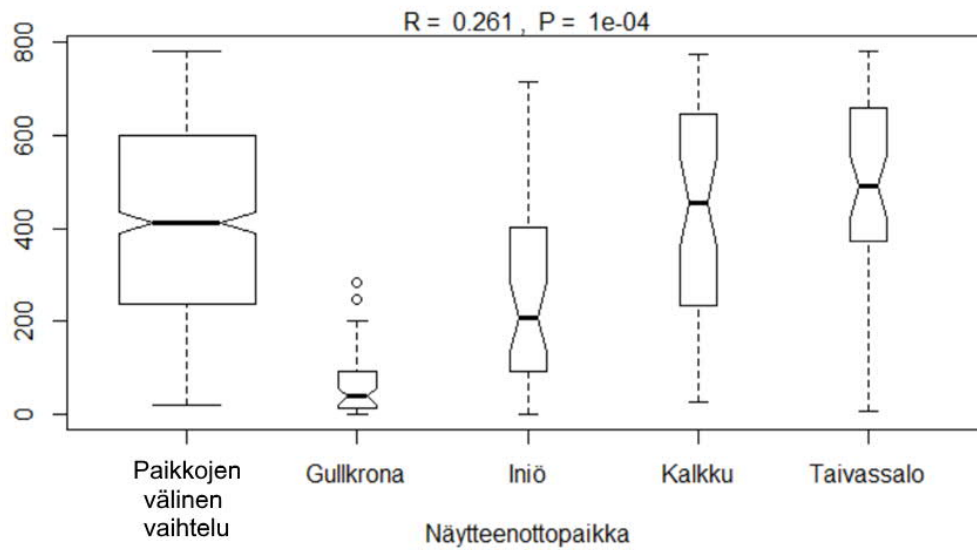
Vuoden 2020 aineistosta tehty vertailu (NMDS-analyysi) osoitti, että lihasnäytteiden rasvahappokoostumukset erosivat jonkin verran toisistaan näytteenotto paikasta riippuen (Kuva

6). Myös eri vuodenaikoina (talvikausi/lisääntymiskausi) kerätyt näytteet jakautuivat NMDS-ordinaatiossa osin erilleen. NMDS-analyysin 2-ulotteisen ordinaation luotettavuutta kuvaava lopullinen stressiarvo oli 0.10, viitaten siihen, että ordinaatio-kuvaajan vastaavuus alkuperäiseen aineistoon oli hyvä.

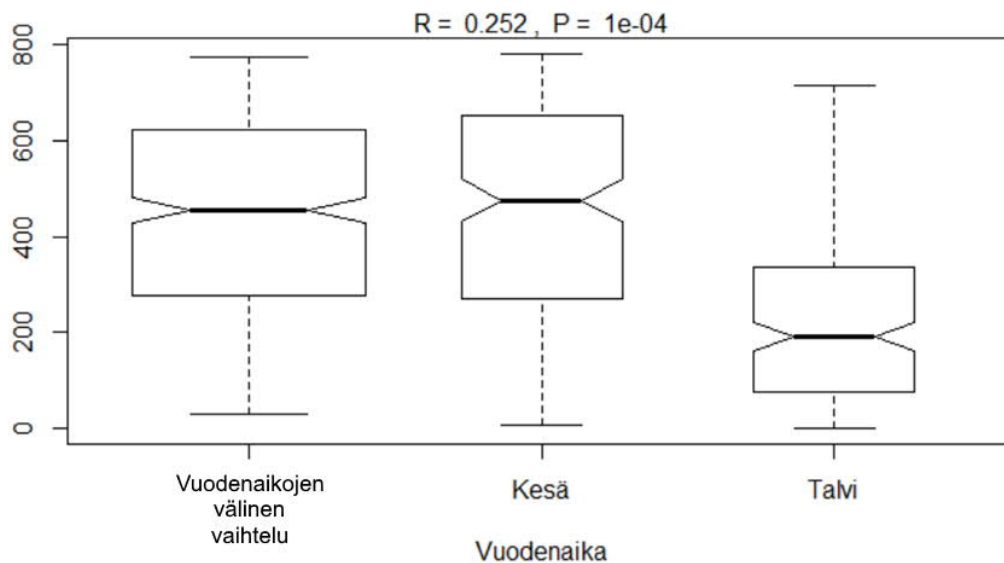


Kuva 6. Rasvahappojen ryhmittyminen kaksiulotteisessa NMDS-ordinaatiossa vuodenajan ja näytteenottoaikan perusteella. Stressi = 0.10. (Vihreä=kesä; keltainen=talvi).

NMDS-ordinaatiosta havaittuja eroja tutkittiin similariteetti- (anosim) ja permutaatio- (adonis) analyyseilla, joiden molempien tulokset tukivat ordinaatiokuvista tehtyjä silmämääräisiä havaintoja. Analyysien tulokset viittasivat myös siihen, että vuodenajan (Anosim: $R=0.25$, $p<0.001$; Adonis: $R^2=0.12$, $p=0.04$) ja näytteenottoaikan (Anosim: $R=0.26$, $p<0.001$; Adonis: $R^2=0.11$, $p=0.007$) välinen vaihtelu on suurempaa niiden sisäiseen vaihteluun verrattuna (Kuva 7 ja 8). Similariteetti- ja permutaatioanalyyseiden suhteellisen alhaiset R - (<0.3) ja R^2 -arvot (<0.12) kuitenkin viittaavat siihen, että näytteen rasvahappokoostumuksissa on paljon hajontaa, mikä ei selity näytteenottoaikalla tai -ajankohdalla.



Kuva 7. Similariteetti-analyysin (Anosim) avulla tuotettu box-plot -kuvaaja silakan lihasnäytteiden rasvahappokoostumuseroista (engl. Dissimilarity ranks) näytteenottoaikojen välillä suhteessa näytteiden sisällä tapahtuvaan vaihteluun. Analyysi perustuu Bray-Curtis etäisyysmittoihin.



Kuva 8. Similariteetti-analyysin (Anosim) avulla tuotettu box-plot -kuvaaja silakanäytteiden rasvahappokoostumuseroista (engl. Dissimilarity ranks) vuodenaikojen välillä suhteessa näytteiden sisällä tapahtuvaan vaihteluun. Analyysi perustuu Bray-Curtis etäisyysmittoihin.

Ryhmien välisiä eroja tutkittiin myös similariteetti-prosentti-analyysillä (SIMPER), jonka tulosten mukaan näytteet erosivat merkittävästi toisistaan joidenkin rasvahappojen osalta. Kesänäytepaikat Taivassalo ja Kalkku erosivat eniten tilastollisesti toisistaan, kun taas vähiten eroja löytyi talvinäytepaikkojen Gullkronan ja Iniön-Kustavin välillä (Taulukko 7). Kaikkien tutkittujen ryhmien välillä rasvahapot DHA, EPA, Öljyhappo, Eikoseenihappo, Eikosatrieenihappo, Palmitiinihappo, Myristiinihappo, ja Palmitoleiinihappo pääasiassa selittivät ryhmien välisistä

dissimilariteettia (Taulukot 7 ja 8). Tämän lisäksi, muutaman näytteenottoaikan välillä eroja selittivät myös Palmitiinihappo, Linoleenihappo ja Alfa-linoleenihappo (Taulukko 7).

Taulukko 7. Similariteettiprosentti-analyysin (SIMPER) tulokset, jotka esittävät yksittäisten rasvahappojen vaikutusta eri näytteenottoaikkojen välisiin eroihin Bray-Curtis etäisyysmatriisilla. Taulukossa on esitetty kaikki noin 70% paikkojen välistä dissimilariteettia selittävää rasvahappoa. Lihavoidut rasvahapot kertovat tilastollisesti merkitsevää eroa ($p < 0.05$).

Keskimääräinen eroavaisuus 10.6%				Taivassalo		Gullkrona
Rasvahappo		Diss	s	k.a.	k.a.	Kontrib
DHA	22:6(n-3)	1.4 %	1.1 %	51.1 %	56.2 %	13.2 %
Arakidonihappo	20:4(n-6)	1.4 %	0.6 %	10.8 %	1.8 %	13.0 %
Öljyhappo	18:1(n-9)	1.3 %	0.9 %	44.4 %	38.7 %	12.4 %
EPA	20:5(n-6)	0.8 %	0.5 %	28.4 %	32.1 %	7.5 %
Palmitoleiinihappo	16:1(n-7)	0.7 %	0.5 %	17.9 %	21.9 %	7.1 %
Eikoseenihappo	20:1(n-9)	0.7 %	0.5 %	11.6 %	8.1 %	6.6 %
Myristiinihappo	14:0	0.6 %	0.3 %	17.2 %	16.8 %	5.3 %
Eikosatrieenihappo	20:3(n-3)	0.6 %	0.5 %	6.7 %	9.7 %	5.2 %
Keskimääräinen eroavaisuus 10.8%				Taivassalo		Iniö-Kustavi
DHA	22:6(n-3)	1.5 %	1.2 %	51.1 %	55.9 %	14.2 %
Öljyhappo	18:1(n-9)	1.4 %	1.0 %	44.4 %	38.0 %	12.9 %
Eikoseenihappo	20:1(n-9)	1.0 %	0.7 %	11.6 %	5.5 %	9.6 %
EPA	20:5(n-6)	0.9 %	0.7 %	28.4 %	32.9 %	8.4 %
Eikosatrieenihappo	20:3(n-3)	0.9 %	0.6 %	6.7 %	2.4 %	8.3 %
Palmitoleiinihappo	16:1(n-7)	0.6 %	0.4 %	17.9 %	20.2 %	5.8 %
Myristiinihappo	14:0	0.6 %	0.4 %	17.2 %	16.6 %	5.3 %
Eikosadieenihappo	20:2(n-6)	0.5 %	0.4 %	10.2 %	8.1 %	5.0 %
Keskimääräinen eroavaisuus 11.6%				Taivassalo		Kalkku
DHA	22:6(n-3)	2.0 %	1.5 %	51.1 %	58.4 %	16.9 %
Öljyhappo	18:1(n-9)	1.6 %	1.1 %	44.4 %	40.5 %	13.9 %
EPA	20:5(n-6)	0.9 %	0.6 %	28.4 %	30.4 %	7.7 %
Eikoseenihappo	20:1(n-9)	0.9 %	0.6 %	11.6 %	9.4 %	7.5 %
Palmitoleiinihappo	16:1(n-7)	0.8 %	0.6 %	17.9 %	14.5 %	6.9 %
Myristiinihappo	14:0	0.8 %	0.5 %	17.2 %	15.5 %	6.8 %
Eikosatrieenihappo	20:3(n-3)	0.8 %	0.6 %	6.7 %	4.3 %	6.8 %
Palmitiinihappo	16:00	0.6 %	0.8 %	44.1 %	44.6 %	5.5 %
Keskimääräinen eroavaisuus 7.8%				Gullkrona		Iniö-Kustavi
Arakidonihappo	20:4(n-6)	1.3 %	0.4 %	1.8 %	10.5 %	17.0 %
Eikosatrieenihappo	20:3(n-3)	1.2 %	0.5 %	9.7 %	2.4 %	15.1 %
DHA	22:6(n-3)	0.8 %	0.7 %	56.2 %	55.9 %	10.6 %
Öljyhappo	18:1(n-9)	0.7 %	0.5 %	38.7 %	38.0 %	9.6 %
Eikoseenihappo	20:1(n-9)	0.5 %	0.5 %	8.1 %	5.5 %	5.9 %
Palmitoleiinihappo	16:1(n-7)	0.4 %	0.3 %	21.9 %	20.2 %	5.7 %
EPA	20:5(n-6)	0.4 %	0.3 %	32.1 %	32.9 %	4.6 %
Linolihappo	18:2(n-6)c	0.3 %	0.3 %	16.6 %	17.0 %	4.2 %
Keskimääräinen eroavaisuus 10.1%				Gullkrona		Kalkku
Arakidonihappo	20:4(n-6)	1.6 %	0.6 %	1.8 %	12.4 %	14.9 %

DHA	22:6(n-3)	1.4 %	0.9 %	56.2 %	58.4 %	12.8 %
Öljyhappo	18:1(n-9)	1.3 %	0.8 %	38.7 %	40.5 %	11.6 %
Palmitoleiinihappo	16:1(n-7)	1.2 %	0.6 %	21.9 %	14.5 %	10.7 %
Eikosatrieenihappo	20:3(n-3)	0.9 %	0.7 %	9.7 %	4.3 %	8.0 %
Myristiinihappo	14:0	0.6 %	0.4 %	16.8 %	15.5 %	5.6 %
Alfalinoleenihappo	18:3(n-3)	0.6 %	0.3 %	13.9 %	10.1 %	5.4 %
EPA	20:5(n-6)	0.6 %	0.5 %	32.1 %	30.4 %	5.3 %

Keskimääräinen eroavaisuus 10.3%

Iniö-Kustavi

Kalkku

DHA	22:6(n-3)	1.5 %	1.0 %	55.9 %	58.4 %	14.8 %
Öljyhappo	18:1(n-9)	1.3 %	0.9 %	38.0 %	40.5 %	12.9 %
Palmitoleiinihappo	16:1(n-7)	1.0 %	0.6 %	20.2 %	14.5 %	9.3 %
Eikoseenihappo	20:1(n-9)	0.8 %	0.7 %	5.5 %	9.4 %	8.1 %
EPA	20:5(n-6)	0.7 %	0.6 %	32.9 %	30.4 %	6.9 %
Eikosatrieenihappo	20:3(n-3)	0.7 %	0.6 %	2.4 %	4.3 %	6.9 %
Alfalinoleenihappo	18:3(n-3)	0.7 %	0.4 %	14.5 %	10.1 %	6.6 %
Myristiinihappo	14:0	0.6 %	0.5 %	16.6 %	15.5 %	6.1 %

Diss, keskimääräinen vaikutus ryhmien väliseen dissimilariteettiin; s, vaikutuksen keskihajonta; k.a.; Rasvahappo% keskiarvo ryhmässä; Kontrib; Rasvahapon %-vaikutus dissimilariteettiin

Taulukko 8. Similariteettiprosentti-analyysin (SIMPER) tulokset, jotka esittävät yksittäisten rasvahappojen vaikutusta kesällä ja talvella kerättyjen näytteiden välisiin eroihin Bray-Curtis etäisyysmatriisilla. Taulukossa on esitetty kaikki vuodenaikojen välistä dissimilariteettia selittävää rasvahappoa. Lihavoidut rasvahapot kertovat tarkasteltujen näytteenottoaikkojen välisestä tilastollisesti merkitsevästä erosta ($p < 0.05$).

Keskimääräinen eroavaisuus 10.7%				Kesä	Talvi		
		Diss	s	k.a.	k.a.	Kontrib	p
DHA	22:6(n-3)	1.47 %	1.05 %	54.74 %	56.08 %	13.75 %	0.08
Öljyhappo	18:1(n-9)c	1.33 %	0.91 %	42.49 %	38.36 %	12.45 %	0.02
Arakidonihappo	20:4(n-6)	0.92 %	0.74 %	11.58 %	6.13 %	8.58 %	0.001
Palmitoleiinihappo	16:1(n-7)	0.88 %	0.59 %	16.18 %	21.07 %	8.22 %	0.001
Eikoseenihappo	20:1(n-9)	0.78 %	0.66 %	10.47 %	6.82 %	7.34 %	0.003
Eikosatrieenihappo	20:3(n-3)	0.76 %	0.62 %	5.52 %	6.02 %	7.12 %	0.70
EPA	20:5(n-3)	0.75 %	0.58 %	29.38 %	32.53 %	7.01 %	0.01
Myristiinihappo	14:0	0.60 %	0.39 %	16.37 %	16.70 %	5.60 %	0.05
Alfalinoleenihappo	18:3(n-3)	0.55 %	0.37 %	10.81 %	14.22 %	5.18 %	0.001
Eikosadieenihappo	20:2(n-6)	0.47 %	0.39 %	9.17 %	8.13 %	4.44 %	0.02
Palmitiinihappo	16:0	0.43 %	0.63 %	44.33 %	45.97 %	4.06 %	0.11
Linoliinihappo	18:2(n-6)c	0.40 %	0.30 %	17.83 %	16.82 %	3.73 %	0.06
Steariinihappo	18:0	0.33 %	0.22 %	15.80 %	15.89 %	3.11 %	0.17
Pentadekyylihappo	15:0	0.33 %	0.38 %	4.84 %	6.64 %	3.09 %	0.001
Nervonihappo	24:1(n-9)	0.29 %	0.21 %	12.30 %	12.31 %	2.70 %	0.34
Lignoseriinihappo	24:0	0.24 %	0.23 %	8.29 %	8.18 %	2.26 %	0.77
Vakseenihappo	18:1(n-7)	0.15 %	0.11 %	15.47 %	15.89 %	1.36 %	0.21

Diss, keskimääräinen vaikutus ryhmien väliseen dissimilariteettiin; s, vaikutuksen keskihajonta; k.a., Rasvahappo% keskiarvo ryhmässä; Kontrib; Rasvahapon %-vaikutus dissimilariteettiin

3.6. Mädin rasvahappokoostumus

Mädin rasvahappokoostumus määritettiin vuosina 2020 ja 2021 vuosien välisten erojen selvittämiseksi ja aineistoa vertailtiin myös aikaisempiin Saaristomeren alueella tehtyihin tutkimuksiin (Taulukko 9). Näistä v. 2013 määritetyt näytteet otettiin samoin Airistolla kutevasta silakasta, ja varhaisimmat, v. 1978 tutkitut kalatkin olivat Saaristomereltä peräisin, joskaan aluetta ei k.o. tutkimuksessa (Kaitaranta & Linko 1984) ole tarkemmin ilmoitettu.

Myös mädin rasvahappokoostumus oli monipuolinen, sillä kaikkiaan mädissä esiintyvistä rasvista tunnistettiin 40 yksittäistä rasvahappoa. Samoin kuin lihasrasvassa, useimpien suhteellinen osuus rasvahappojen kokonaismäärästä oli vähäinen (<0.5 %), sillä noin 70 % vuosina 2020 ja 2021 tutkittujen kalojen rasvahapoista koostui palmitiini- ja öljyhaposta sekä omega-3 rasvahapoista. EPA:n ja DHA:n osuus mädin rasvoista oli yhteensä noin 40 % (Taulukko 9). Merkittäviä muutoksia ei mädin rasvahappokoostumuksessa näyttäisi tapahtuneen pitkinäkään aikajaksoina, mutta yksilöiden välillä eroja koostumuksessa esiintyy samankin vuoden näytteissä, samoin kuin mädin sisältämän rasvan määrässä. Erot ovat kuitenkin vähäisiä eikä niiden perusteella voida osoittaa merkittäviä vuosien välisiä eroja mädin rasvojen laadussa.

Taulukko 9. Mädin rasvahappokoostumus (näytteiden keskiarvo; suluissa keskihajonta) Airistolla lisääntyvässä silakassa touko-kesäkuussa vuosina 2013, 2020 ja 2021. Rasvahappojen %-osuus on laskettu osuutena kaikista rasvahapoista näytteessä; taulukossa vain ne rasvahapot, joiden %-osuus on >0.5 %; n= tutkittujen kalojen lukumäärä. *) Kaitaranta & Linko (1984)

	2021	2020	2013	1978 *) (kokooma- näyte)
<i>Rasvahappo</i>	% (n=15)	% (n=11)	% (n=5)	
14:0	1.9 (0.2)	1.9 (0.4)	2.4 (0.4)	3.1
15:0	0.5 (0.1)	-		
16:0	20.0 (0.9)	20.1 (0.7)	24.6 (0.9)	23.4
22:0			0.9 (0.3)	
18:0	3.6 (1.0)	3.7 (1.4)	1.9 (0.3)	1.1
16:1(n-7)	5.2 (2.2)	2.8 (0.8)	4.8 (1.2)	4.4
18:1(n-7)	3.8 (1.1)	3.4 (0.4)	4.2 (1.4)	3.9
18:1(n-9)	9.4 (1.2)	9.5 (1.4)	10.1 (1.2)	9.5
18:2(n-6)	2.0 (0.5)	2.8 (0.5)	4.1 (0.4)	4.1
18:3(n-3)	1.2 (0.4)	1.4 (0.2)	2.3 (2.3)	2.5
20:4(n-6)	2.2 (0.8)	2.5 (1.1)	0.8 (0.3)	0.6
20:5(n-3)	11.5 (1.0)	11.8 (1.0)	11.3 (0.8)	10.1
22:6(n-3)	27.0 (3.4)	29.4 (2.0)	25.9 (1.8)	29.0
24:1(n-9)	0.7 (0.4)			

3.7. Silakan lihaksen dioksiinipitoisuus

Lihaksen dioksiinipitoisuutta Saaristomeren alueelta pyydettyssä silakassa selvitettiin sekä talvella että kutuaikana otetuista näytteistä vuosina 2020 ja 2021. Koska suurikokoisia yksilöitä (>20 cm) ei näytteissä esiintynyt lainkaan ja aineistossa pääosan muodostivat pienikokoiset, jokseenkin

samankokoiset kalat, näytteet käsiteltiin kokoomanäytteinä, jotka koostuivat 10-20 kalayksilön lihaskudoksesta.

Tutkituista kongeneereista useimpien pitoisuus jäi alle tutkimuslaboratorion (ALS Finland Oy) ilmoittaman määrittämissä raja-arvoissa (liite 1). Tämän ylittäneitä kongeneereja oli ainoastaan kolme (2,3,7,8-tetraCDF, 1,2,3,7,8-pentaCDF ja 2,3,4,7,8-pentaCDF), ja näistä mikään ei kuulu WHO:n toksikologisen luokituksen mukaisesti haitallisimpiin dioksiiniyhdisteisiin (Taulukko 10). Esimerkiksi myrkyllisimpiin kongeneereihin (TEF-arvo=1) kuuluvan 2,3,7,8-tetraCDD:n pitoisuus ei ylittänyt analyysissä käytettyä määrittämissä raja-arvoa.

Talvella Gullkronan ja Iniö-Kustavin merialueilta pyydettyä troolikalassa dioksiinipitoisuus oli varsin matala (summa WHO-PCDD/F-TEQ = 0.52 – 0.55 pg/g; Taulukko 10), eivätkä pitoisuudet näin ollen ylittäneet kalalle asetettua määrärajaa 3.5 pg/g (EU asetus 1259/2011). Myöskään Taivassalosta otetussa rysäsilakassa määräraja ei ylittynyt (summa WHO-PCDD/F-TEQ = 2.1 pg/g), mutta Airiston rysäkalassa sallittu enimmäismäärä ylittyi dioksiinipitoisuuden osalta v. 2020 (summa WHO-PCDD/F-TEQ = 4.8 pg/g) ja myös siksi, että näytteessä esiintyi dioksiinien lisäksi myös PCB-yhdisteitä (Liite 1). Vuonna 2021 Airiston rysäkalasta otetussa lisänäytteessä dioksiinitaso oli kuitenkin jokseenkin sama kuin Taivassalon rysäkalassa, joten oletettavasti korkeampaa dioksiinipitoisuutta aikaisemmassa näytteessä selittää jokin satunnainen tekijä.

Dioksiinien pitoisuus kalassa on yhteydessä rasvapitoisuuteen, joka vaihteli yksilöittäin etenkin kutevassa silakassa. Siten on mahdollista, että rysäsilakan korkeammat dioksiinipitoisuudet näytteissä johtuvat muutamista yksilöistä, joiden rasvapitoisuus oli muita korkeampi. Kokoomanäytteistä tätä ei kuitenkaan ole mahdollista selvittää, sillä tarkempien tietojen saaminen edellyttäisi riittävän suuren kalamäärän analysointia yksilöittäin. Dioksiinien pitoisuuteen vaikuttaa myös kalan ikä, koska iän myötä aineiden kertymä kalassa kasvaa (Airaksinen *et al.* 2014). Kalojen ikätietoja ei tutkituista kaloista ollut käytettävissä, mutta esimerkiksi v. 2020 Airistolla kutevan kalan ikä pituusluokassa (15-16 cm) oli keskimäärin 5 vuotta ja kalat olivat enimmäkseen 4-6-vuotiaita (oma aineisto). Samassa pituusluokassa kuitenkin esiintyi yli 10-vuotiaitakin yksilöitä, joten on mahdollista, että Airiston rysäsilakan korkeampi dioksiinipitoisuus selittyy osin kalojen iällä.

Koska dioksiinit kulkeutuvat kalaan ravinnon mukana ympäristöstä, ilmentää kalan dioksiinipitoisuus kuitenkin ensisijaisesti niiden syönnösalueiden dioksiinitasoa. Merkintätutkimusten mukaan osa Saaristomerellä lisääntyvistä silakoista viettää syönnös- ja talvehtimisvaiheensa Saaristomerren ulko- ja välisaaristossa, mutta osa vaeltaa kudun jälkeen Selkämerelle, josta kalat todennäköisesti palaavat taas takaisin entisille kutupaikoilleen Saaristomerellä (Parmanne 1990; Kääriä *et al.* 2000). Selkämeren silakassa dioksiineja on enemmän kuin Saaristomerellä ympäristön suuremmasta kontaminaatiosta johtuen (Miller *et al.* 2012; Airaksinen *et al.* 2018; Rantakokko *et al.* 2019), joten on ilmeistä, että kutevan silakan korkeampi dioksiinitaso on peräisin Selkämereltä, jossa kalat ovat viettäneet syönnöskautensa. Selkämerellä silakan ravintokohteet vaihtelevat vuodenajoin (Rajasilta *et al.* 2014), mutta makroskooppiset äyriäiset (*Mysis* spp.) ovat lajin pääravintoa etenkin syksyllä, jolloin kalan rasvavarastot muodostuvat. Dioksiinien kongeneereista 2,3,7,8-TCDF on dominantti etenkin *Mysis*-suvun äyriäisissä Selkämerellä (Miller *et al.* 2013), joten saman kongeneerin kohonneet pitoisuudet

Saaristomerellä kutevassa kalassa voivat hyvin ilmentää sekä kalan syönnösalueetta että lajin keskeisiä ravintokohteita Selkämeren ravintoketjuissa.

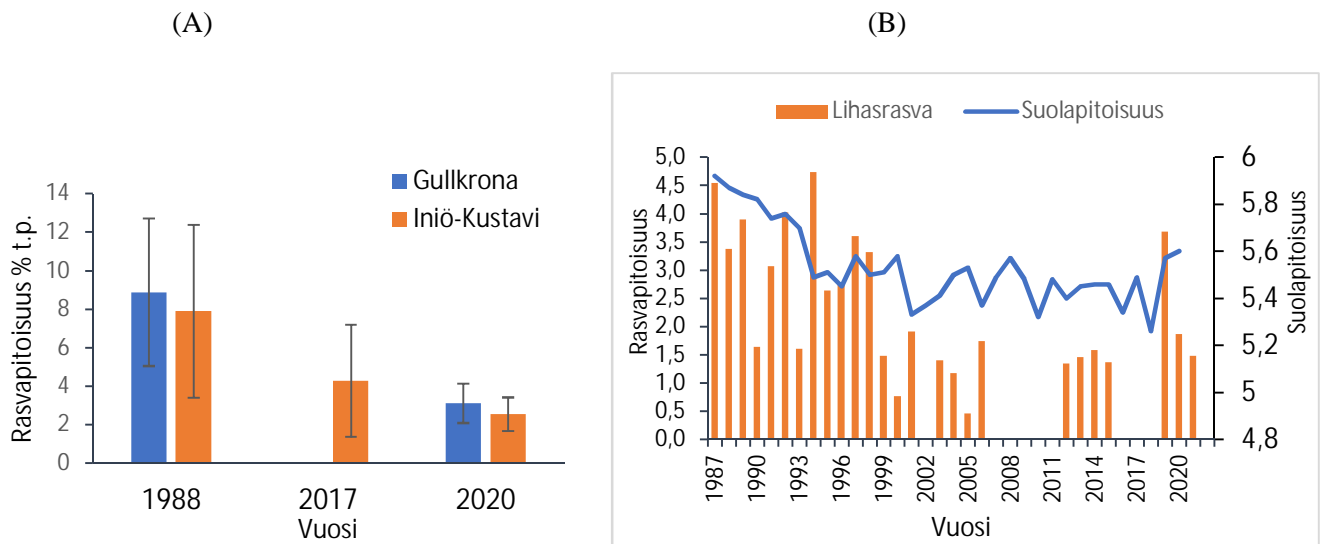
Taulukko 10. Eri dioksiiniyhdisteitten (kongeneeri) pitoisuus silakan lihaksessa (pg/g) Saaristomereltä talvikaudella pyydytyssä troolikalassa ja lisääntymiskaudella pyydytyssä rysäkalassa vuosina 2020 ja 2021. Luvut ilmoittavat analyyseissä käytetyn määrittämissä raja-arvoissa; lihavointi osoittaa määrittämissä raja-arvojen ylittäneiden kongeneerien pitoisuudet; TEF-arvo=kongeneerin suhteellinen haitallisuus WHO:n toksikologisuusluokituksen mukaan (1= haitallisin yhdiste). Lisätietoja liitteessä 1.

Yhdiste (kongeneeri)	TALVI			LISÄÄNTYMISKAUSSI			WHO 2005
	Gullkrona 2020 pg/g	Iniö-Kustavi 2020 pg/g	2021 pg/g	Airisto 2020 pg/g	Airisto 2021 pg/g	Taivassalo 2020 pg/g	TEF-ARVO
2,3,7,8-tetraCDD	<0.047	<0.063	<0.19	<0.13	<0.16	<0.11	1
1,2,3,7,8-pentaCDD	<0.13	<0.14	<0.36	<0.17	<0.18	<0.17	1
1,2,3,4,7,8-heksaCDD	<0.34	<0.41	<0.74	<0.22	<0.17	<0.22	0.1
1,2,3,6,7,8-heksaCDD	<0.24	<0.33	<0.63	<0.22	<0.24	<0.24	0.1
1,2,3,7,8,9-heksaCDD	<0.24	<0.33	<0.61	<0.23	<0.23	<0.24	0.1
1,2,3,4,6,7,8-heptaCDD	<0.05	<0.093	<0.27	<0.59	<0.12	<0.33	0.01
OCDD	<0.12	<0.19	<1	<0.45	<0.46	<0.41	0.0003
2,3,7,8-tetraCDF	0.81	0.47	<0.13	7.1	3.9	3.5	0.1
1,2,3,7,8-pentaCDF	<0.084	<0.097	<0.33	1.6	0.52	<0.17	0.003
2,3,4,7,8-pentaCDF	0.4	0.26	<0.36	12	6.9	4.2	0.3
1,2,3,4,7,8-heksaCDF	<0.25	<0.17	<0.39	<0.53	<0.17	<0.29	0.1
1,2,3,6,7,8-heksaCDF	<0.16	<0.18	<0.44	<0.4	<0.19	<0.21	0.1
1,2,3,7,8,9-heksaCDF	<0.24	<0.24	<0.42	<0.5	<0.16	<0.28	0.1
2,3,4,6,7,8-heksaCDF	<0.21	<0.24	<0.44	<0.49	<0.21	<0.22	0.1
1,2,3,4,6,7,8-heptaCDF	<0.038	<0.066	<0.23	<0.37	<0.14	<0.36	0.01
1,2,3,4,7,8,9-heptaCDF	<0.038	<0.08	<0.21	<0.36	<0.15	<0.28	0.01
OCDF	<0.091	<0.14	<0.78	<0.46	<0.17	<0.44	0.0003
summa WHO-PCDD/F-TEQ alaraja	0.2	0.12	0	4.2	2.5	1.6	
summa WHO-PCDD/F-TEQ yläraja	0.55	0.52	0.52	4.8	2.8	2.1	

5. Lihasrasvan määrän ja laadun pitkäaikaismuutokset

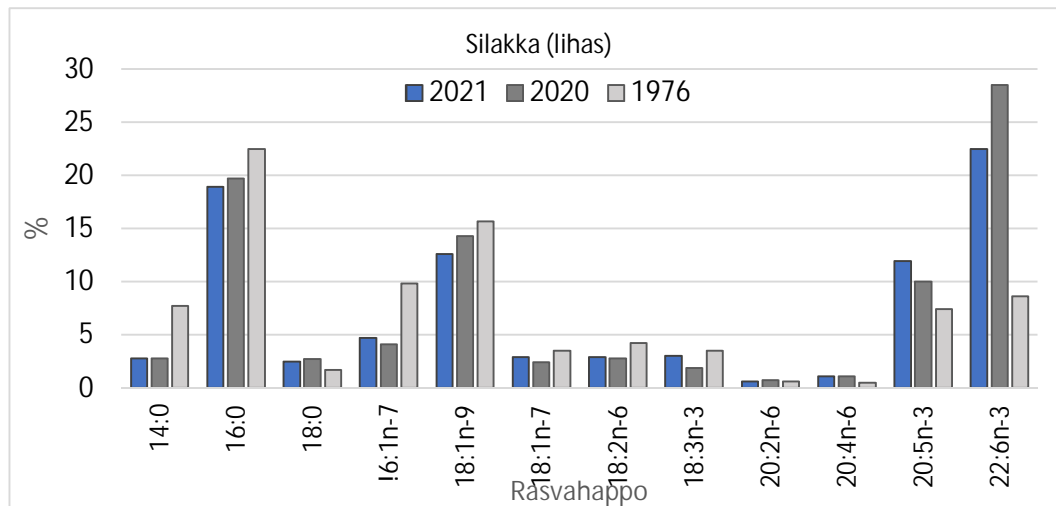
Saaristomerellä silakan lihaksen rasvapitoisuutta on tutkittu v. 2020 tehdyn tutkimuksen lisäksi talvikautena 1988 ja 2017 ja Airistolla kutevasta kalasta vuosittain 1980-luvun lopulta alkaen vuosittain (Rajasilta 1992; Rajasilta *et al.* 2018). Sekä talvi- että lisääntymiskautena saadut tulokset osoittavat, että kalan rasvapitoisuus on selvästi pienentynyt tutkimusjakson aikana (Kuva 9). Vuonna 1988 silakan lihaksen rasvapitoisuus oli Saaristomerellä otetuissa näytteissä keskimäärin 7-8 % (t.p.), kun se v. 2020 oli samoilla alueilla enää keskimäärin 2-3 % (t.p.). Toisaalta myös yksilöiden väliset erot ovat pienentyneet ja kalasta on siten tullut sekä koon että rasvapitoisuuden

suhteen tasalaatuisempaa verrattuna 1980-luvun tilanteeseen. Talvikaudella 1988 tehdyssä tutkimuksessa, jossa näytteet otettiin Gullkronan ja Iniön merialueiden lisäksi myös kahdelta muulta alueelta Saaristomeren eri osista, kalojen koko ja lihaksen rasvapitoisuus vaihtelivat huomattavasti yksilöittäin, mutta alueiden välillä ei eroja havaittu (Rajasilta 1992). Vuoden 1988 näyteaineistossa (n=90) nykyiset maksimipitoisuudet (5 % t.p.) ylittäviä lihasrasvan pitoisuuksia esiintyi noin 70 %:lla kaloista, kun vastaavia pitoisuuksia oli vuoden 2020 talvinäytteissä ainoastaan 4-5%:lla kaloista. Muutoksen syytä ei täysin tunneta, mutta selvimmin se liittyy Itämeren suolapitoisuuden alenemiseen (Rajasilta *et al.* 2019).



Kuva 9. Silakan lihaksen rasvapitoisuus (% t.p.; näytteiden keskiarvo ja keskihajonta) (A) talvinäytteissä Saaristomeren eri osissa vuosina 1988, 2017 ja 2020 (n = 122) ja (B) Airstolta pyydetystä rysäkalassa kutuaikana 1987-2021 (n=546) sekä meriveden suolapitoisuus Selkämerellä vastaavana aikana.

Varhaisin lounaisrannikolta pyydetystä silakasta tehty tutkimus lihaskudoksen rasvahappokoostumuksesta on vuodelta 1976 (Linko *et al.* 1985). Keskeisten rasvahappojen osalta kalan rasvahappoprofiili näyttää pysyneen varsin samankaltaisena tämän tutkimuksen tuloksiin verrattuna (kuva 10), mutta huomattavin muutos näyttäisi tapahtuneen pitkäketjuisten, monitydyttymättömien rasvahappojen kohdalla. Vuoden 1976 lokakuussa määritetyissä näytteissä esimerkiksi DHA:n (22:6n-3) ja EPA:n (20:5n-3) osuus silakan lihaksen kaikista rasvahapoista oli yhteensä 16 %, kun se vuosina 2020-21 oli keskimäärin 30-40 %. Erot voivat osin johtua käytetyistä analyysimenetelmistä ja mahdollisesti näyteajankohdankin eroista, koska vuosien 2020 ja 2021 kalanäytteet otettiin marras-joulukuussa, jolloin kalat ovat jo lisääntymissyklin eri vaiheessa lokakuun tilanteeseen verrattuna. Toisaalta tulos kuitenkin vastaa muissakin tutkimuksissa havaittua muutosta, jonka mukaan monitydyttymättömien rasvahappojen (mm. DHA, EPA) osuus silakan rasvassa on merkittävästi kasvanut koko Itämeren alueella (Lind *et al.* 2018). Yleistäen voidaan siten sanoa, että vaikka rasvan määrä kalassa on vuosien mittaan vähentynyt, on rasvan laatu parantunut entisestään painottuen nyt ihmisenkin terveyden kannalta välttämättömiin ja hyödyllisiin omega-3 -rasvahappoihin.



Kuva 10. Keskeisten rasvahappojen %-osuus silakan lihaksen kaikista rasvahapoista eri vuosina. Vuoden 1976 tulokset Linko et al. (1985) mukaan.

6. Silakan rasvapitoisuusmääritykset Saaristomeren silakkaa jalostavissa ja myyvissä yrityksissä

Tutkimuksen yhteydessä osoitettiin 17:lle kalaa jalostavalle yritykselle tiedustelu koskien yritysten mahdollisesti itse tekemiä tai teettämiä rasvapitoisuusmäärityksiä Saaristomereltä kalastetusta silakoista. Yritykset toimivat Uudenkaupungin, Kemiönsaaren, Paraisten, Turun, Raision, Kustavin, Taivassalon, Salon ja Naantalin alueilla. Tavoitelluista yrityksistä 8 vastasi tiedusteluihin; näistä 6 yritystä ilmoitti myyvän Saaristomereltä pyydettyä silakkaa tai käyttävänsä näitä raaka-aineena tuotannossaan. Yksi vastanneista yrityksistä on päättänyt poistamaan Saaristomeren silakan valikoimastaan MSC-sertifikaatin menetyksen (15.9.2021) jälkeen. Syynä tähän on ollut yrityksen linjaus myydä vain MSC-sertifioitua kalaa. Kuitenkin Suomen Ammattikalastajaliitto SAKL oli 5.7.2021 lähetetyllä viestillään itse pyytänyt sertifiointilaitos Lloyd'sia keskeyttämään (nk. self-suspension) MSC-sertifikaatin voimassaolon keskisen silakkakannan osalta (ICES osa-alueet 25-29+32/trooli+rysä). Kyseiseltä alueelta 15.9.2021 alkaen pyydettyä silakkaa ei saa markkinoida MSC-sertifikaatilla. Keskinen silakkakanta on kuitenkin edelleen vuosittaisten MSC-arviointien piirissä (<http://sakl.fi/msc/>).

Muutama yritys ilmoitti myyvän silakkaa sekä vähittäis- että tukkumyynnissä, mutta silakan rasvamäärityksiä ei ole koettu tarpeelliseksi. Ainoastaan kaksi yritystä teettää silakasta rasvamäärityksiä, mutta kilpailusyistä toinen ei katsonut voivansa luovuttaa tuloksia julkaistavaksi. Toinen yrityksistä ilmoitti teettäneensä rasvapitoisuuden määrityksiä silakan eri kokoluokista vuosina 2013–2014, 2016–2017 ja 2019–2020 ja tarjosi aineiston myös tutkimuksen käyttöön. Tässä työssä k.o. tuloksia ei kuitenkaan käsitelty, koska saatavilla olevat muut aineistot eivät olleet näiden kanssa vertailukelpoisia menetelmällisistä eroista johtuen.

7. Yhteenveto

Tutkimuksessa selvitettiin silakan lihaksen ja mädin rasvapitoisuuden ja rasvahappokoostumuksen alueellista ja ajallista vaihtelua Saaristomeren alueelta pyydytyssä trooli- ja rysäsaaliissa. Tämän lisäksi kaloista määritettiin lihaksen dioksiinipitoisuus, joka rajoittaa silakan käyttöä elintarvikkeena. Näytteet otettiin vuosina 2020 ja 2021 talvikaudella (marras- joulukuu), jolloin silakan syönnöskausi on pääosin päättynyt, ja lisäksi lisääntymiskautena kevätkesällä (touko- kesäkuu), jolloin kalasta saatiin myös mätinäytteet. Talvinäytteitä saatiin kumpanakin vuotena troolisaaliista Saaristomeren etelä- ja pohjoisosasta (Gullkronan ja Iniö-Kustavin merialueet), mutta rysäsaaliista näytteitä saatiin ainoastaan Airistolta ja Taivassalosta, koska etelämpänä Saaristomerellä rysäpyyntiä ei tiettävästi harjoitettu tutkimusvuosien aikana.

Talvikaudella Saaristomeren alueelta pyydetty troolisilakka oli tyypillisesti pienikokoista (keskipituus 15 cm) eikä suurikokoisia yksilöitä (> 20 cm) näytteissä esiintynyt lainkaan. Kalan lihaskudos sisälsi rasvaa keskimäärin 2-3 % (t.p.) molemmilla alueilla, mutta rasvapitoisuudessa oli jonkin verran yksilöiden välisiä eroja (vaihteluväli 1.1-5.4 %). Kalan rasvapitoisuus ei kuitenkaan ollut yhteydessä kalan pituuteen, joten erojen taustalla on jokin muu tekijä kuin kalan koko. Lihasrasva koostui kaikkiaan noin 40:stä rasvahaposta, joista noin puolet esiintyi vain vähäisinä pitoisuuksina (osuus < 1 % kaikista rasvahapoista). Suurimman osan muodostivat palmitiinihappo (16:0), öljyhappo (18:1n-9), ja monityydyttymättömät rasvahapot EPA (20:5n-3) ja DHA (22:6n-3), jotka ovat ns. elimistölle välttämättömiä rasvahappoja. Talvikautisissa näytteissä EPA:n ja DHA:n osuus kaikista tunnistetuista rasvahapoista oli koko analysoidussa aineistossa (n=40) noin 35-38 %. Kaikkiaan alueelliset erot talvikaudella olivat vähäisiä eikä saaliin koostumuksessa todettu merkittäviä eroja kalan koossa, lihasrasvan määrässä tai rasvojen laadussa.

Lisääntymiskautena otetuissa rysänäytteissä silakan keskipituus oli jonkin verran suurempi (n. 16 cm) kuin talvisessa troolikalassa, mutta pienikokoisia kaloja (14-15 cm) näytteissä oli runsaasti (osuus näytteissä 20-30 %). Rysäsaaliissa esiintyi molemmilla alueilla jonkin verran myös yli 20 cm:n pituisia kaloja, mutta näiden osuus oli vähäinen (1-2 %). Kalan lihaksen rasvapitoisuus oli lisääntymiskaudella keskimäärin 1.5 % (t.p.) ja siten jonkin verran matalampi kuin talvikaudella pyydytyssä kalassa. Pyyntipaikkojen välisiä eroja ei rysäkalankaan rasvapitoisuudessa havaittu, mutta rasvapitoisuus vaihteli huomattavasti yksilöittäin. Kalan rasvahappokoostumuksessa oli vähäisiä alueidenvälisiä eroja, mutta koko aineistossa rasvahappokoostumus erosi selvimmin lähinnä vuodenajan suhteen. Rysäsilakankin lihasrasvasta suurimman osan muodostivat monityydyttymättömät omega-3 -rasvahapot (EPA ja DHA), joiden osuus oli korkea myös mädin rasvassa (35-40 %). Mädin rasvapitoisuus oli hyvin matala, keskimäärin noin 1 % (t.p.).

Dioksiineja Saaristomeren silakassa esiintyi hyvin vähän etenkin talvikaudella pyydytyssä troolikalassa, eikä myöskään keväisen rysäsilakan dioksiinipitoisuus ylittänyt elintarvikkeille asetettuja pitoisuusrajoja.

Vertailu aikaisempiin tutkimustuloksiin osoittaa, että silakan rasvapitoisuus on huomattavasti alentunut viimeisten noin 20-30 vuoden aikana. Kala sisältää siten vähemmän rasvaa, mutta rasvojen laatu on todennäköisesti parantunut terveellisten omega-3 -rasvahappojen muodostaessa entistä suuremman osan kalan rasvojen koostumuksesta. Muutoksen syytä ei täysin tunneta, mutta selvimmin se liittyy Itämeren suolapitoisuuden alenemiseen.

Kiitokset

Kiitämme kalastajia kalanäytteistä ja kalaa jalostavia yrityksiä saamistamme tiedoista.

Kirjallisuusviitteet

- Airaksinen R, Hallikainen A, Rantakokko P, Ruokojärvi P, Vuorinen PJ, Parmanne R, Verta M, Mannio J, Kiviranta H (2014). Time trends and congener profiles of PCDD/Fs, PCBs, and PBDEs in Baltic herring off the coast of Finland during 1978–2009. - *Chemosphere* 114: 165-171.
- Airaksinen R, Jestoi M, Keinänen M, Kiviranta H, Koponen J, Mannio J, Myllylä T, Nieminen, J, Raitaniemi J, Rantakokko P, ym. (2018). Muutokset kotimaisen luonnonkalan ympäristömyrkkypitoisuuksissa (EU-kalat III). Valtioneuvoston selvitys- ja tutkimustoiminnan julkaisusarja 51/2018.
- Aro T, Tahvonon R, Mattila T, Nurmi J, Sivonen T & Kallio H (2000). Effects of season and processing on oil content and fatty acids of Baltic herring (*Clupea harengus membras*). - *J. Agric. Food. Chem.* 48: 6085-6093.
- Clarke KR & Warwick RM (2001). Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation, 2nd edition. – PRIMER-E Ltd. Plymouth.
- IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Kaitaranta J & Linko R (1984). Fatty acids in the roe lipids of common food fishes. - *Comp. Biochem. Physiol.* 79B: 331-334.
- Komission asetus (EU) N:o 1259/2011 asetuksen (EY) N:o 1881/2006 muuttamisesta elintarvikkeissa olevien dioksiinien, dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden enimmäismäärien osalta.
- Kääriä J, Aneer G, Eklund J, Jönsson N, Naarminen M & Rajasilta M (2001). A tagging experiment on spring-spawning Baltic herring (*Clupea harengus membras*) in southwestern Finland in 1990-1998. pp 599-609 *In: Herring: Expectations for a new millennium.* (Eds. Funk F, Blackburn J, Hay D, Paul AJ, Stephenson R, Toresen R & Witherell D). University of Alaska Sea Grant, 800 pp.
- Linko R, Kaitaranta J & Vuorela R (1985). Comparison of fatty acids in Baltic herring and available plankton feed. - *Comp. Biochem. Physiol.* 82B: 699-705.
- Miller A, Hedman J & Bignert A (2012). Temporal, seasonal and spatial variation in dioxins and dioxin-like PCBs from Baltic herring (*Clupea harengus*) in the Baltic Sea. Swedish Museum of Natural History. Report 15:2012. 84 pp.
- McCune B & Mefford MJ (1999). PC-ORD. Multivariate analysis of ecological data, ver. 4. – MjM Software Design.
- Oksanen J, Guillaume Blanchet F, & Friendly M (2019). Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-6.
- Parmanne R (1990) Growth, morphological variation and migrations of herring (*Clupea harengus* L.) in the northern Baltic Sea.
- Peltonen H, Raitaniemi J, Parmanne R, Eklund J, Nyberg K, Halling F (2002). Age determination of Baltic herring from whole otoliths and from neutral red stained otolith cross sections. - *ICES J. Mar. Sci.* 59: 323–332.
- Rajasilta M (1992). Relationship between food, fat, sexual maturation and spawning time of Baltic herring (*Clupea harengus membras*) in the Archipelago Sea. - *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49: 644-654.
- Rajasilta M, Hänninen J. & Vuorinen I (2014). Decreasing salinity improves the feeding conditions of the Baltic herring (*Clupea harengus membras*) during spring in the Bothnian Sea, northern Baltic. *ICES J. Mar. Sci.* doi:10.1093/icesjms/fsu047
- Rajasilta M, Hänninen J, Laaksonen L, Suomela J-P, Vuorinen I & Mäkinen K (2018). Influence of environmental conditions, population density, and prey type on the lipid content in Baltic herring (*Clupea harengus membras*) from the northern Baltic Sea. – *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49: 644-654.
- Rantakokko P, Peltonen H, Leskelä A, Hakalax R, Myllylä T, Lerche K-O, Kiviranta H (2019). Kalojen vierasaineiden ja vesiympäristön tilan seurannat kustannustehokkaammiksi tutkijoiden ja kalastuselinkeinoon yhteistyöllä (KALAKAS). Loppuraportti, 35 s.
- R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Turun ammattikorkeakoulu (2008). Silakan vientiedellytysten selvityshanke Japaniin. Loppuraportti, 98 s.

Liitteet

Liite 1. Dioksiinimäärittysten alkuperäiset tulokset määrittäjäpäivämäärinen/ ALS Finland Oy.

1. ALS SAMPLE ID: HL2103894/ 001, Acquisition date [d.m.y]: 07.10.2021, Gullkrona --> näyte kerätty 22.11.2020 - 23.11.2021

2. ALS SAMPLE ID: HL2200582/ 002, Acquisition date [d.m.y]: 14.03.2022, Kalkku --> näyte kerätty 24.5.2021

3. ALS SAMPLE ID: HL2103894/ 003, Acquisition date [d.m.y]: 07.10.2021, Kalkku --> näyte kerätty 27.5. -8.6.2020

4. ALS SAMPLE ID: HL2103894/ 004, Acquisition date [d.m.y]: 07.10.2021, Taivassalo --> näyte kerätty 3.6.2020

5. ALS SAMPLE ID: HL2103894/ 002, Acquisition date [d.m.y]: 07.10.2021, Iniö --> näyte kerätty 15.12.2020- 9.12.2021



Attachment no. 1 to the Certificate of Analysis for work order HL2103894

Sample: GullKrona

ALS SAMPLE ID: HL2103894/ 001

Measurement results PCDD/Fs:

Sample:		GullKrona			
		Final extract [µl]:	25		
Sample weight [g]:	30.35	Injection volume [µl]:	4		
		Acquisition date [d.m.y]:	07.10.2021		
2,3,7,8-PCDD/Fs	Result [pg/g]	Limit of Detection [pg/g]	Limit of Quantification [pg/g]	¹ WHO 2005 TEFs	WHO-TEQ Upperbound [pg/g]
2,3,7,8-TCDD	< 0.047	0.047	0.095	1	0.047
1,2,3,7,8-PeCDD	< 0.13	0.13	0.26	1	0.13
1,2,3,4,7,8-HxCDD	< 0.34	0.34	0.69	0.1	0.034
1,2,3,6,7,8-HxCDD	< 0.24	0.24	0.47	0.1	0.024
1,2,3,7,8,9-HxCDD	< 0.24	0.24	0.47	0.1	0.024
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	< 0.05	0.05	0.1	0.01	0.0005
OCDD	< 0.12	0.12	0.25	0.0003	0.000037
2,3,7,8-TCDF	0.81	0.089	0.18	0.1	0.081
1,2,3,7,8-PeCDF	< 0.084	0.084	0.17	0.03	0.0025
2,3,4,7,8-PeCDF	0.4	0.092	0.18	0.3	0.12
1,2,3,4,7,8-HxCDF	< 0.25	0.25	0.5	0.1	0.025
1,2,3,6,7,8-HxCDF	< 0.16	0.16	0.32	0.1	0.016
1,2,3,7,8,9-HxCDF	< 0.24	0.24	0.48	0.1	0.024
2,3,4,6,7,8-HxCDF	< 0.21	0.21	0.41	0.1	0.021
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	< 0.038	0.038	0.075	0.01	0.00038
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	< 0.038	0.038	0.077	0.01	0.00038
OCDF	< 0.091	0.091	0.18	0.0003	0.000027
WHO-TEQ from quantified 2,3,7,8-PCDD/Fs -"Lowerbound"					0.2
WHO-TEQ from 2,3,7,8-PCDD/Fs -, "Mediumbound"					0.37
Maximum possible WHO-TEQ -"Upperbound"					0.55
PCDDs	Result [pg/g]	PCDFs	Result [pg/g]		
Tetra-CDDs	< 1	Tetra-CDFs	0.81		
Penta-CDDs	< 1.8	Penta-CDFs	0.4		
Hexa-CDDs	< 3.4	Hexa-CDFs	< 4		
Hepta-CDDs	< 0.1	Hepta-CDFs	< 0.15		
OCDD	< 0.12	OCDF	< 0.091		
Total PCDDs	< 6.5	Total PCDFs	1.2		

¹WHO 2005 TEF: Van den Berg et al: Toxicological Sciences Advance Acces, 7 July 2006

The limit of quantification is defined as double of the detection limit.

The limit of detection is defined as the amount of analyte producing a signal with S/N≥3.

The value of detection limit is mentioned as the actual value at the acquisition date.

Limit of detection is equal to LOQ according to Commission Regulation (EU) No 2017/644.

Measurement uncertainty is expressed as a double (k=2) relative standard deviation (RSD%), and corresponds to 95% confidence interval.

Estimation of uncertainty of each 2,3,7,8-PCDD/F congener is 30% and total WHO-TEQ is 20%.

These values were ensured by analyses of certified reference material under conditions of internal reproducibility.

Results marked "<" are below limit of detection or quantification.

"Lowerbound" and "Upperbound" are levels defined in Regulation 2017/644 and EN 1948-4.

"Mediumbound" is levels defined in Regulation 2017/644.



Attachment no. 2 to the Certificate of Analysis for work order HL2200582

Sample: Kalkku

ALS SAMPLE ID: HL2200582/ 002

Measurement results PCDD/Fs:

Sample:		Kalkku			
		Final extract [µl]:	25		
Sample weight [g]:	28.92	Injection volume [µl]:	4		
		Acquisition date [d.m.y]:	14.03.2022		
2,3,7,8-PCDD/Fs	Result [pg/g]	Limit of Detection [pg/g]	Limit of Quantification [pg/g]	¹ WHO 2005 TEFs	WHO-TEQ Upperbound [pg/g]
2,3,7,8-TCDD	< 0.16	0.082	0.16	1	0.16
1,2,3,7,8-PeCDD	< 0.09	0.09	0.18	1	0.09
1,2,3,4,7,8-HxCDD	< 0.085	0.085	0.17	0.1	0.0085
1,2,3,6,7,8-HxCDD	< 0.12	0.12	0.24	0.1	0.012
1,2,3,7,8,9-HxCDD	< 0.12	0.12	0.23	0.1	0.012
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	< 0.059	0.059	0.12	0.01	0.00059
OCDD	< 0.46	0.23	0.46	0.0003	0.00014
2,3,7,8-TCDF	3.9	0.026	0.052	0.1	0.39
1,2,3,7,8-PeCDF	0.52	0.066	0.13	0.03	0.016
2,3,4,7,8-PeCDF	6.9	0.069	0.14	0.3	2.1
1,2,3,4,7,8-HxCDF	< 0.17	0.085	0.17	0.1	0.017
1,2,3,6,7,8-HxCDF	< 0.096	0.096	0.19	0.1	0.0096
1,2,3,7,8,9-HxCDF	< 0.081	0.081	0.16	0.1	0.0081
2,3,4,6,7,8-HxCDF	< 0.11	0.11	0.21	0.1	0.011
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	< 0.069	0.069	0.14	0.01	0.00069
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	< 0.075	0.075	0.15	0.01	0.00075
OCDF	< 0.083	0.083	0.17	0.0003	0.000025
WHO-TEQ from quantified 2,3,7,8-PCDD/Fs -"Lowerbound"					2.5
WHO-TEQ from 2,3,7,8-PCDD/Fs -, "Mediumbound"					2.6
Maximum possible WHO-TEQ -"Upperbound"					2.8
PCDDs	Result [pg/g]	PCDFs		Result [pg/g]	
Tetra-CDDs	< 1.8	Tetra-CDFs		3.9	
Penta-CDDs	< 1.3	Penta-CDFs		7.4	
Hexa-CDDs	< 0.85	Hexa-CDFs		< 1.4	
Hepta-CDDs	< 0.12	Hepta-CDFs		< 0.28	
OCDD	< 0.46	OCDF		< 0.083	
Total PCDDs	< 4.5	Total PCDFs		11	

¹WHO 2005 TEF: Van den Berg et al: Toxicological Sciences Advance Acces, 7 July 2006

The limit of quantification is defined as double of the detection limit.

The limit of detection is defined as the amount of analyte producing a signal with S/N≥3.

The value of detection limit is mentioned as the actual value at the acquisition date.

Limit of detection is equal to LOQ according to Commission Regulation (EU) No 2017/644.

Measurement uncertainty is expressed as a double (k=2) relative standard deviation (RSD%), and corresponds to 95% confidence interval.

Estimation of uncertainty of each 2,3,7,8-PCDD/F congener is 30% and total WHO-TEQ is 20%.

These values were ensured by analyses of certified reference material under conditions of internal reproducibility.

Results marked "<" are below limit of detection or quantification.

"Lowerbound" and "Upperbound" are levels defined in Regulation 2017/644 and EN 1948-4.

"Mediumbound" is levels defined in Regulation 2017/644.



Attachment no. 3 to the Certificate of Analysis for work order HL2103894

Sample: Kalkku

ALS SAMPLE ID: HL2103894/ 003

Measurement results PCDD/Fs:

Sample:		Kalkku			
		Final extract [μl]:	25		
Sample weight [g]:	10.3	Injection volume [μl]:	4		
		Acquisition date [d.m.y]:	07.10.2021		
2,3,7,8-PCDD/Fs	Result [pg/g]	Limit of Detection [pg/g]	Limit of Quantification [pg/g]	¹ WHO 2005 TEFs	WHO-TEQ Upperbound [pg/g]
2,3,7,8-TCDD	< 0.13	0.13	0.26	1	0.13
1,2,3,7,8-PeCDD	< 0.17	0.17	0.35	1	0.17
1,2,3,4,7,8-HxCDD	< 0.22	0.22	0.44	0.1	0.022
1,2,3,6,7,8-HxCDD	< 0.22	0.22	0.45	0.1	0.022
1,2,3,7,8,9-HxCDD	< 0.23	0.23	0.45	0.1	0.023
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	< 0.59	0.3	0.59	0.01	0.0059
OCDD	< 0.45	0.45	0.9	0.0003	0.00013
2,3,7,8-TCDF	7.1	0.13	0.27	0.1	0.71
1,2,3,7,8-PeCDF	1.6	0.16	0.31	0.03	0.047
2,3,4,7,8-PeCDF	12	0.21	0.41	0.3	3.5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	< 0.53	0.53	1.1	0.1	0.053
1,2,3,6,7,8-HxCDF	< 0.4	0.4	0.81	0.1	0.04
1,2,3,7,8,9-HxCDF	< 0.5	0.5	0.99	0.1	0.05
2,3,4,6,7,8-HxCDF	< 0.49	0.49	0.98	0.1	0.049
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	< 0.37	0.37	0.74	0.01	0.0037
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	< 0.36	0.36	0.73	0.01	0.0036
OCDF	< 0.46	0.46	0.92	0.0003	0.00014
WHO-TEQ from quantified 2,3,7,8-PCDD/Fs -"Lowerbound"					4.2
WHO-TEQ from 2,3,7,8-PCDD/Fs -,,"Mediumbound"					4.5
WHO-TEQ from 2,3,7,8-PCDD/Fs -,,"Upperbound"					4.8
PCDDs	Result [pg/g]	PCDFs	Result [pg/g]		
Tetra-CDDs	< 2.9	Tetra-CDFs	7.1		
Penta-CDDs	< 2.4	Penta-CDFs	13		
Hexa-CDDs	< 2.2	Hexa-CDFs	< 8.4		
Hepta-CDDs	< 0.59	Hepta-CDFs	< 1.5		
OCDD	< 0.45	OCDF	< 0.46		
Total PCDDs	< 8.6	Total PCDFs	20		

¹WHO 2005 TEF: Van den Berg et al: Toxicological Sciences Advance Acces, 7 July 2006

The limit of quantification is defined as double of the detection limit.

The limit of detection is defined as the amount of analyte producing a signal with S/N≥3.

The value of detection limit is mentioned as the actual value at the acquisition date.

Limit of detection is equal to LOQ according to Commission Regulation (EU) No 2017/644.

Measurement uncertainty is expressed as a double (k=2) relative standard deviation (RSD%), and corresponds to 95% confidence interval.

Estimation of uncertainty of each 2,3,7,8-PCDD/F congener is 30% and total WHO-TEQ is 20%.

These values were ensured by analyses of certified reference material under conditions of internal reproducibility.

Results marked "<" are below limit of detection or quantification.

"Lowerbound" and "Upperbound" are levels defined in Regulation 2017/644 and EN 1948-4.

"Mediumbound" is levels defined in Regulation 2017/644.



Attachment no. 3 to the Certificate of Analysis for work order HL2103894

Sample: N/A

ALS SAMPLE ID: HL2103894/ 003

Measurement results PCBs:

Sample:		N/A			
		Final extract [µl]:	250		
Sample weight [g]:	10.3	Injection volume [µl]:	4		
		Acquisition date [d.m.y h:m]:	00.01.1900		
PCBs	Result [pg/g]	Limit of Detection [pg/g]	Limit of Quantification [pg/g]	¹ WHO 2005 TEFs	WHO-TEQ Upperbound [pg/g]
PCB #77	< 230000	230000	750000	0.0001	23
PCB #81	< 190000	190000	630000	0.0003	56
PCB #126	< 180000	180000	600000	0.1	18000
PCB #169	< 200000	200000	680000	0.03	6100
PCB #105	< 170000	170000	570000	0.00003	5.1
PCB #114	< 160000	160000	530000	0.00003	4.8
PCB #118	< 170000	170000	570000	0.00003	5.1
PCB #123	< 170000	170000	580000	0.00003	5.2
PCB #156	< 190000	190000	630000	0.00003	5.7
PCB #157	< 200000	200000	660000	0.00003	5.9
PCB #167	< 200000	200000	650000	0.00003	5.9
PCB #189	< 210000	210000	710000	0.00003	6.4
WHO-TEQ from quantified PCBs - "Lowerbound"					0
WHO-TEQ from quantified, 0,5LOD and 0,5LOQ non quantified PCBs-"Mediumbound"					12000
WHO-TEQ from quantified, LOD and LOQ non quantified PCBs -"Upperbound"					24000
PCBs	Result [ng/g]	Limit of Detection [ng/g]	Limit of Quantification [ng/g]	Σindicator PCB Lowerbound [ng/g]	Σindicator PCB Upperbound [ng/g]
PCB #28	< 190	190	640	0	190
PCB #52	< 180	180	590	0	180
PCB #101	< 170	170	570	0	170
PCB #138	< 180	180	610	0	180
PCB #153	< 180	180	610	0	180
PCB #180	< 200	200	660	0	200
Σindicator PCB 6 -"Lowerbound"				0	-
Σindicator PCB 6 -"Upperbound"				-	1100

¹WHO 2005 TEF: Van den Berg et al: Toxicological Sciences Advance Acces, 7 July 2006

Limits of quantification are defined on the base of blank level.

The limit of detection is defined as the amount of analyte producing a signal with S/N≥3.

The value of the detection limit is mentioned as the actual value at the acquisition date.

Limit of detection is equal to LOQ according to Commission Regulation (EU) No 2017/644.

Measurement uncertainty is expressed as a double (k=2) relative standard deviation (RSD%), and corresponds to 95% confidence interval.

Estimation of uncertainty of each PCB congener is 30%, total WHO-TEQ and sum of PCB6 is 20%.

These values were ensured by analyses of certified reference material under conditions of internal reproducibility.

Results marked "<" are lower than the limit of detection or quantification.

"Lowerbound" and "Upperbound" are levels defined in Regulation 2017/644 and EN 1948-4.

"Mediumbound" is level defined in Regulation 2017/644.



Attachment no. 3 to the Certificate of Analysis for work order HL2103894

Sample: Kalkku

ALS SAMPLE ID: HL2103894/ 003

Summary

Sample: Kalkku				
	Sum of dioxins ¹ WHO-PCDD/F-TEQ [pg/g]	Sum of dioxin like-PCBs ¹ WHO-PCB-TEQ [pg/g]	Sum of dioxins and dioxin like-PCBs ¹ WHO-PCDD/F-PCB-TEQ [pg/g]	Sum of PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153, PCB180 (ICES-6) [ng/g]
"Lowerbound"	4.2	0	4.2	0
"Mediumbound"	4.5	12000	12000	550
"Upperbound"	4.8	24000	24000	1100

¹WHO 2005 TEF: Van den Berg et al: Toxicological Sciences Advance Acces, 7 July 2006

"Lowerbound" and "Upperbound" are levels defined in Regulation 2017/644 and EN 1948-4.

"Mediumbound" is level defined in Regulation 2017/644.



Attachment no. 4 to the Certificate of Analysis for work order HL2103894

Sample:

Taivassalo

ALS SAMPLE ID: HL2103894/ 004

Measurement results PCDD/Fs:

Sample:		Taivassalo			
		Final extract [μl]:	25		
Sample weight [g]:	27.58	Injection volume [μl]:	4		
		Acquisition date [d.m.y]:	07.10.2021		
2,3,7,8-PCDD/Fs	Result [pg/g]	Limit of Detection [pg/g]	Limit of Quantification [pg/g]	¹ WHO 2005 TEFs	WHO-TEQ Upperbound [pg/g]
2,3,7,8-TCDD	< 0.11	0.11	0.21	1	0.11
1,2,3,7,8-PeCDD	< 0.17	0.17	0.34	1	0.17
1,2,3,4,7,8-HxCDD	< 0.22	0.22	0.44	0.1	0.022
1,2,3,6,7,8-HxCDD	< 0.24	0.24	0.47	0.1	0.024
1,2,3,7,8,9-HxCDD	< 0.24	0.24	0.48	0.1	0.024
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	< 0.33	0.33	0.65	0.01	0.0033
OCDD	< 0.41	0.41	0.81	0.0003	0.00012
2,3,7,8-TCDF	3.5	0.12	0.23	0.1	0.35
1,2,3,7,8-PeCDF	< 0.17	0.17	0.34	0.03	0.0051
2,3,4,7,8-PeCDF	4.2	0.15	0.3	0.3	1.2
1,2,3,4,7,8-HxCDF	< 0.29	0.29	0.57	0.1	0.029
1,2,3,6,7,8-HxCDF	< 0.21	0.21	0.42	0.1	0.021
1,2,3,7,8,9-HxCDF	< 0.28	0.28	0.57	0.1	0.028
2,3,4,6,7,8-HxCDF	< 0.22	0.22	0.44	0.1	0.022
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	< 0.36	0.36	0.73	0.01	0.0036
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	< 0.28	0.28	0.56	0.01	0.0028
OCDF	< 0.44	0.44	0.89	0.0003	0.00013
WHO-TEQ from quantified 2,3,7,8-PCDD/Fs -"Lowerbound"					1.6
WHO-TEQ from 2,3,7,8-PCDD/Fs -,,"Mediumbound"					1.8
WHO-TEQ from 2,3,7,8-PCDD/Fs -,,"Upperbound"					2.1
PCDDs	Result [pg/g]	PCDFs		Result [pg/g]	
Tetra-CDDs	< 2.3	Tetra-CDFs		3.5	
Penta-CDDs	< 2.4	Penta-CDFs		4.2	
Hexa-CDDs	< 2.2	Hexa-CDFs		< 4.6	
Hepta-CDDs	< 0.65	Hepta-CDFs		< 1.5	
OCDD	< 0.41	OCDF		< 0.44	
Total PCDDs	< 8	Total PCDFs		7.7	

¹WHO 2005 TEF: Van den Berg et al: Toxicological Sciences Advance Acces, 7 July 2006

The limit of quantification is defined as double of the detection limit.

The limit of detection is defined as the amount of analyte producing a signal with S/N≥3.

The value of detection limit is mentioned as the actual value at the acquisition date.

Limit of detection is equal to LOQ according to Commission Regulation (EU) No 2017/644.

Measurement uncertainty is expressed as a double (k=2) relative standard deviation (RSD%), and corresponds to 95% confidence interval.

Estimation of uncertainty of each 2,3,7,8-PCDD/F congener is 30% and total WHO-TEQ is 20%.

These values were ensured by analyses of certified reference material under conditions of internal reproducibility.

Results marked "<" are below limit of detection or quantification.

"Lowerbound" and "Upperbound" are levels defined in Regulation 2017/644 and EN 1948-4.

"Mediumbound" is levels defined in Regulation 2017/644.



Attachment no. 4 to the Certificate of Analysis for work order HL2103894

Sample:

Taivassalo

ALS SAMPLE ID: HL2103894/ 004

Measurement results PCDD/Fs:

Sample:		Taivassalo			
		Final extract [μl]:	25		
Sample weight [g]:	27.58	Injection volume [μl]:	4		
		Acquisition date [d.m.y]:	07.10.2021		
2,3,7,8-PCDD/Fs	Result [pg/g]	Limit of Detection [pg/g]	Limit of Quantification [pg/g]	¹ WHO 2005 TEFs	WHO-TEQ Upperbound [pg/g]
2,3,7,8-TCDD	< 0.11	0.11	0.21	1	0.11
1,2,3,7,8-PeCDD	< 0.17	0.17	0.34	1	0.17
1,2,3,4,7,8-HxCDD	< 0.22	0.22	0.44	0.1	0.022
1,2,3,6,7,8-HxCDD	< 0.24	0.24	0.47	0.1	0.024
1,2,3,7,8,9-HxCDD	< 0.24	0.24	0.48	0.1	0.024
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	< 0.33	0.33	0.65	0.01	0.0033
OCDD	< 0.41	0.41	0.81	0.0003	0.00012
2,3,7,8-TCDF	3.5	0.12	0.23	0.1	0.35
1,2,3,7,8-PeCDF	< 0.17	0.17	0.34	0.03	0.0051
2,3,4,7,8-PeCDF	4.2	0.15	0.3	0.3	1.2
1,2,3,4,7,8-HxCDF	< 0.29	0.29	0.57	0.1	0.029
1,2,3,6,7,8-HxCDF	< 0.21	0.21	0.42	0.1	0.021
1,2,3,7,8,9-HxCDF	< 0.28	0.28	0.57	0.1	0.028
2,3,4,6,7,8-HxCDF	< 0.22	0.22	0.44	0.1	0.022
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	< 0.36	0.36	0.73	0.01	0.0036
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	< 0.28	0.28	0.56	0.01	0.0028
OCDF	< 0.44	0.44	0.89	0.0003	0.00013
WHO-TEQ from quantified 2,3,7,8-PCDD/Fs -"Lowerbound"					1.6
WHO-TEQ from 2,3,7,8-PCDD/Fs -,,"Mediumbound"					1.8
WHO-TEQ from 2,3,7,8-PCDD/Fs -,,"Upperbound"					2.1
PCDDs	Result [pg/g]	PCDFs		Result [pg/g]	
Tetra-CDDs	< 2.3	Tetra-CDFs		3.5	
Penta-CDDs	< 2.4	Penta-CDFs		4.2	
Hexa-CDDs	< 2.2	Hexa-CDFs		< 4.6	
Hepta-CDDs	< 0.65	Hepta-CDFs		< 1.5	
OCDD	< 0.41	OCDF		< 0.44	
Total PCDDs	< 8	Total PCDFs		7.7	

¹WHO 2005 TEF: Van den Berg et al: Toxicological Sciences Advance Acces, 7 July 2006

The limit of quantification is defined as double of the detection limit.

The limit of detection is defined as the amount of analyte producing a signal with S/N≥3.

The value of detection limit is mentioned as the actual value at the acquisition date.

Limit of detection is equal to LOQ according to Commission Regulation (EU) No 2017/644.

Measurement uncertainty is expressed as a double (k=2) relative standard deviation (RSD%), and corresponds to 95% confidence interval.

Estimation of uncertainty of each 2,3,7,8-PCDD/F congener is 30% and total WHO-TEQ is 20%.

These values were ensured by analyses of certified reference material under conditions of internal reproducibility.

Results marked "<" are below limit of detection or quantification.

"Lowerbound" and "Upperbound" are levels defined in Regulation 2017/644 and EN 1948-4.

"Mediumbound" is levels defined in Regulation 2017/644.



Attachment no. 2 to the Certificate of Analysis for work order HL2103894

Sample:

Iniö

ALS SAMPLE ID: HL2103894/ 002

Measurement results PCDD/Fs:

Sample:		Iniö			
		Final extract [µl]:	25		
Sample weight [g]:	26.71	Injection volume [µl]:	4		
		Acquisition date [d.m.y]:	07.10.2021		
2,3,7,8-PCDD/Fs	Result [pg/g]	Limit of Detection [pg/g]	Limit of Quantification [pg/g]	¹ WHO 2005 TEFs	WHO-TEQ Upperbound [pg/g]
2,3,7,8-TCDD	< 0.063	0.063	0.13	1	0.063
1,2,3,7,8-PeCDD	< 0.14	0.14	0.28	1	0.14
1,2,3,4,7,8-HxCDD	< 0.41	0.41	0.81	0.1	0.041
1,2,3,6,7,8-HxCDD	< 0.33	0.33	0.65	0.1	0.033
1,2,3,7,8,9-HxCDD	< 0.33	0.33	0.66	0.1	0.033
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	< 0.093	0.093	0.19	0.01	0.00093
OCDD	< 0.19	0.19	0.38	0.0003	0.000057
2,3,7,8-TCDF	0.47	0.036	0.072	0.1	0.047
1,2,3,7,8-PeCDF	< 0.097	0.097	0.19	0.03	0.0029
2,3,4,7,8-PeCDF	0.26	0.1	0.2	0.3	0.077
1,2,3,4,7,8-HxCDF	< 0.17	0.17	0.34	0.1	0.017
1,2,3,6,7,8-HxCDF	< 0.18	0.18	0.36	0.1	0.018
1,2,3,7,8,9-HxCDF	< 0.24	0.24	0.48	0.1	0.024
2,3,4,6,7,8-HxCDF	< 0.24	0.24	0.47	0.1	0.024
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	< 0.066	0.066	0.13	0.01	0.00066
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	< 0.08	0.08	0.16	0.01	0.0008
OCDF	< 0.14	0.14	0.28	0.0003	0.000042
WHO-TEQ from quantified 2,3,7,8-PCDD/Fs -"Lowerbound"					0.12
WHO-TEQ from 2,3,7,8-PCDD/Fs -, "Mediumbound"					0.32
Maximum possible WHO-TEQ -"Upperbound"					0.52
PCDDs	Result [pg/g]	PCDFs		Result [pg/g]	
Tetra-CDDs	< 1.4	Tetra-CDFs		0.47	
Penta-CDDs	< 1.9	Penta-CDFs		0.26	
Hexa-CDDs	< 4.1	Hexa-CDFs		< 2.7	
Hepta-CDDs	< 0.19	Hepta-CDFs		< 0.26	
OCDD	< 0.19	OCDF		< 0.14	
Total PCDDs	< 7.8	Total PCDFs		0.73	

¹WHO 2005 TEF: Van den Berg et al: Toxicological Sciences Advance Acces, 7 July 2006

The limit of quantification is defined as double of the detection limit.

The limit of detection is defined as the amount of analyte producing a signal with S/N≥3.

The value of detection limit is mentioned as the actual value at the acquisition date.

Limit of detection is equal to LOQ according to Commission Regulation (EU) No 2017/644.

Measurement uncertainty is expressed as a double (k=2) relative standard deviation (RSD%), and corresponds to 95% confidence interval.

Estimation of uncertainty of each 2,3,7,8-PCDD/F congener is 30% and total WHO-TEQ is 20%.

These values were ensured by analyses of certified reference material under conditions of internal reproducibility.

Results marked "<" are below limit of detection or quantification.

"Lowerbound" and "Upperbound" are levels defined in Regulation 2017/644 and EN 1948-4.

"Mediumbound" is levels defined in Regulation 2017/644.